

Die freien Aminosäuren
des Stratum corneum

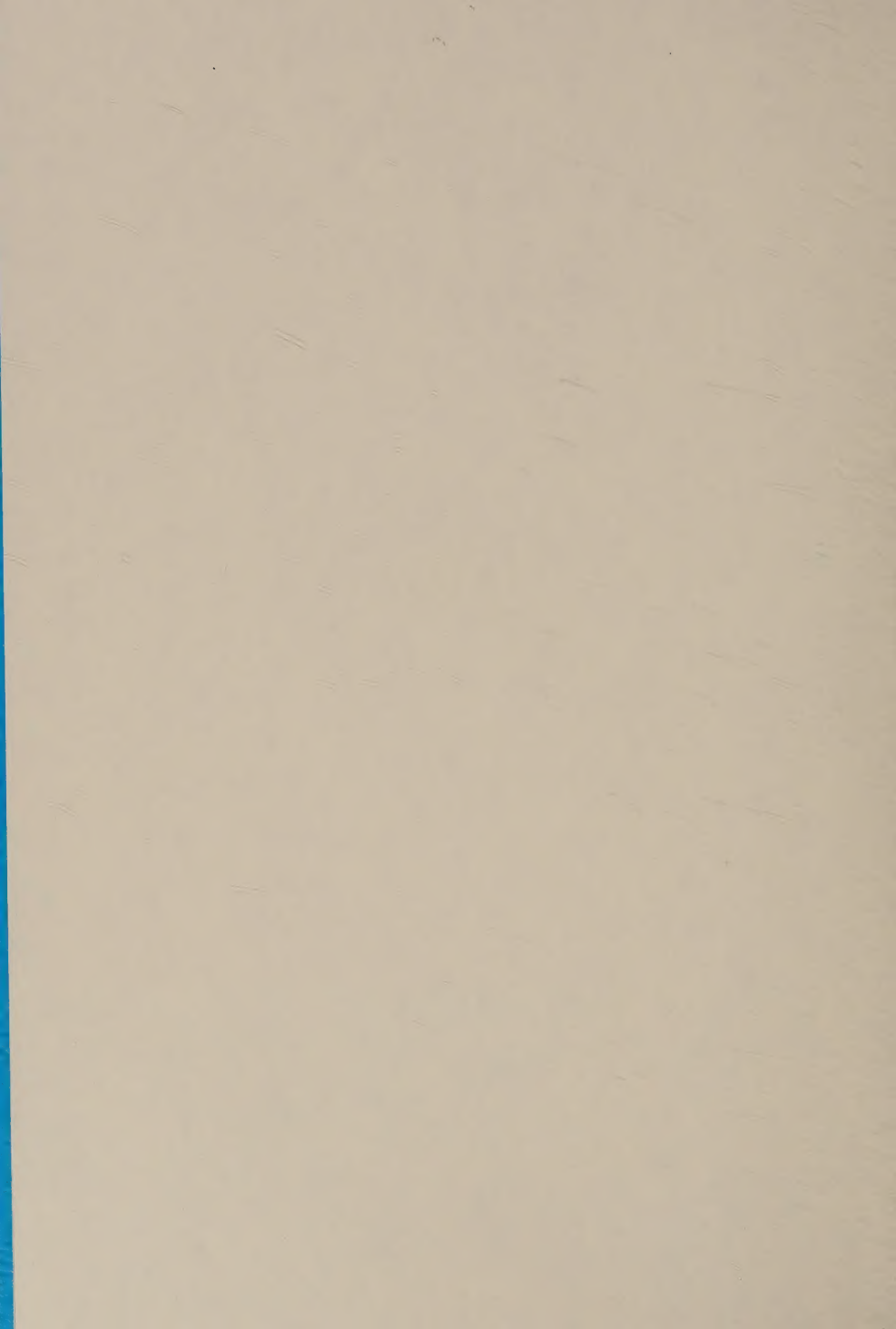
Einfluß von Stoffwechseländerungen
und Stoffwechselstörungen

Adelheid Wurzer

Disbui. München

1988





Aus dem Institut für Medizinische Balneologie und
Klimatologie der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. E. Senn

Die freien Aminosäuren des Stratum corneum

Einfluß von Stoffwechseländerungen und Stoff-
wechselstörungen

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Humanbiologie
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Dipl. oec. troph. Adelheid Wurzer

aus

Paderborn

1987

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. H.G. Pratzel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. E. Senn
Prof. Dr. W. Lange

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann.

Tag der mündlichen Prüfung: 28.01. 1988

Abkürzungen

ALA	= Alanin
ARG	= Arginin
AS	= Aminosäure(n)
ASN	= Asparagin
ASP	= Asparaginsäure
CIT	= Citrullin
GLU	= Glutaminsäure
GLY	= Glycin
HIS	= Histidin
ILE	= Isoleucin
KH	= Kohlenhydrate
LEU	= Leucin
LYS	= Lysin
MCG	= membrane coating granula
MCS	= 2-Mercaptoöthanol
MET	= Methionin
MG	= Molekulargewicht
NOR	= Norleucin
OPT	= ortho-Phtalaldehyd
ORN	= Ornithin
PHE	= Phenylalanin
PRO	= Prolin
SER	= Serin
TG	= Trockengewicht
THR	= Threonin
TYR	= Tyrosin
UCS	= Urocaninsäure
VAL	= Valin
WL	= Wasserlösliches

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis

I.	Einleitung	S.	1
II.	Physiologische und chemische		
	Grundlagen der Haut	S.	7
	A. Funktion und Anatomie	S.	7
	B. Epidermopoese	S.	12
	C. Stoffwechsel der Epidermis	S.	14
	- KH-Stoffwechsel		
	- Fett-Stoffwechsel		
	- Nucleotide und Eiweißstoffwechsel		
	- Epidermis-spezifische Stoffwechsel-		
	produkte		
III.	Material und Methode	S.	26
	A. Patienten	S.	26
	- Kontrollgruppe		
	- Diabetes mellitus		
	- Urämie		
	- Adipositas		
	- Hay'sche Trennkost		
	- Nulldiät		
	- parenterale Ernährung		
	B. Chemische Methodik	S.	32
	1. Materialgewinnung	S.	32
	2. Elutionslösung	S.	33
	3. chem. Analysen einzelner Stoffe	S.	34
	4. Aminosäurechromatographie	S.	35
	- Prinzip		
	- technische Daten		
	5. Auswertung	S.	46

IV.	Ergebnisse	S.	48
	A. Summenwerte	S.	48
	1. Keratingehalt	S.	48
	2. Gesamtgehalt freier AS	S.	49
	B. Verteilung der freien AS	S.	52
	1. Verteilung der freien AS in		
	Absolutwerten (nmol/mg Keratin)	S.	52
	-Kontrollgruppe		
	-Diabetes mellitus		
	-Urämie		
	-Adipositas		
	-Hay'sche Trennkost		
	-Nulldiät		
	-parenterale Ernährung		
	2. Verteilung der freien AS in mol%	S.	59
	Einteilung siehe Absolutwerte		
	3. Verteilung der freien AS in GLY%	S.	64
	Tabellen	S.	68
V.	Diskussion	S.	74
	A. Konzentration und Gesamtmenge	S.	77
	der freien AS bei verschiedenen		
	Stoffwechselstörungen		
	1. Kontrollgruppe	S.	77
	2. Adipositas	S.	77
	3. Diabetes mellitus	S.	78
	4. Urämie	S.	78
	5. parenterale Ernährung	S.	79
	6. Nulldiät	S.	79
	7. Hay'sche Trennkost	S.	80

B. Zusammenhänge zwischen Serum- spiegel und Hautkonzentration bei einzelnen AS	S. 80
1.Diabetes	S. 81
2.Urämie	S. 82
3.Adipositas	S. 84
4.Hay'sche Trennkost	S. 85
5.parenterale Ernährung	S. 85
6.Nulldiät	S. 85
C. Abhängigkeiten der freien AS im Stratum corneum von endogenen Faktoren	S. 90
1.Alter	S. 90
2.Geschlecht	S. 91
3.genetischer Faktor	S. 91
D. Korrelationen zwischen einzel- nen AS	S. 94
1.saure AS GLU, ASP, ASN	S. 94
2.Pufferkapazität des WL	S. 95
3.SER, THR	S. 96
4.GLY, ALA, CIT	S. 97
5.verzweigtkettige AS	S. 99
6.basische AS; ARG/ORN	S. 102
E. Abhängigkeiten der freien AS im Stratum corneum von weiteren Faktoren	S. 103
1.exogene Faktoren	S. 103
- Abrißstelle	
- physikalische Einflüsse	
- Zeitfaktor, Temperatur	
2.meßtechnische Faktoren	S. 104
-Materialgewinnung;	
-Elution und Probenverarbeitung	
-Chromatographie	

3.statistische Fehler und Auswertung	S. 108
-statistische Methoden	
-mg-1 Keratin als Bezugssystem	
-mol%	
-Variabilitätskoeffizient	
F. Ausblick	S. 116
VI. Zusammenfassung	S. 118
VII. Literaturverzeichnis	S. 122

I. EINLEITUNG

Seit den Anfängen der Medizin werden die dem menschlichen Auge offenliegenden Veränderungen des Organs "Haut" registriert, bewertet und mit den verschiedenen Krankheiten assoziiert.

Neben dermatologischen Erkrankungen verursachen viele gastroenterologische und Stoffwechsel-Krankheiten charakteristische Hautveränderungen: zum Beispiel ist das Hautkolorit verändert bei Lebererkrankungen (Gelbsucht), bei Hämochromatose, bei Urämie (grau-braunes Kolorit). Trophische Störungen treten bei vielen nutritiv bedingten Mangelkrankungen auf. Beim Marasmus, der extremen Form der Protein-und Kalorienmangelernährung, zeigen sich neben der Hautschuppung Veränderungen des Elastingehalts der Haut. Unzureichende Zufuhr an essentiellen Fettsäuren ruft auf der Haut diffuse Erytheme, Trockenheit und Schuppung hervor.

Bei der Haut als typischem "Mausergewebe" kommen Vitaminmangelzustände besonders zum Tragen: Vitamin A-mangel führt zu follikulärer Hyperkeratose, Vitamin K zu Ekchymose, ein Vitamin B2-Defizit zu Glossitis, Cheilitis, perioralen Hautveränderungen, ein Vitamin B6-Mangel zu seborrhoischer Dermatitis.

Mangel an Spurenelementen, z.B. von Zink, zeigen sich auf der Haut als Akrodermatitis enteropathica; Störungen im Kupferstoffwechsel führen zum Morbus Wilson mit Dermatitis exfoliativa (SHERERTZ; NELDNER; DANKS; ROE; BAMJI; STÜTTGEN).

Umschriebene Hautveränderungen kommen ebenfalls bei Stoffwechselerkrankungen vor, z.B. Spider naevi bei Lebererkrankungen, rezidivierende Furunkulose bei Diabetes mellitus und Urämie, Exantheme und Vaskulitiden bei Infekten (BRAUN-FALCO; CREMER).

Bei diesen Krankheitsbildern liegt wohl ein ursäch-



licher Zusammenhang zwischen der Stoffwechseländerung und den Hautveränderungen vor; es gibt hierzu wenige pathohistologische Befunde (BRAUN-FALCO; SANDRITTER). Biochemische Befunde, analog den Parakeratose-Untersuchungen bei dermatologischen Erkrankungen, sind in der zugänglichen Literatur nur vereinzelt vorhanden (HERMANN; STÜTTGEN; FITZPATRICK; PETER; ROE). Daher bot sich eine entsprechende biochemische Untersuchung des Organs "Haut" bei Stoffwechselstörungen an.

Die Dermis setzt sich aus verschiedenen chemischen Bestandteilen zusammen. Ein Blick in die Medizingschichte zeigt, daß zuerst die den Hautanhangsgebilden entstammenden Stoffwechselprodukte, der Talg und der Schweiß, untersucht wurden. Die biochemische Analyse der eigentlichen Epidermis erfolgte später.

Die oberste Schicht der Epidermis, das Stratum corneum, wird im wesentlichen aus 4 Fraktionen gebildet (Prozentzahlen bezogen auf fettfreies Trockengewicht) (SPIER ; SCHWARZ 1979; SZAKALL; GOLDSMITH):

Skleroproteine	50 - 58 %
Lipide	4 - 20 %
Wasser	2 - 20 %
Wasserlösliche Substanzen	26 - 42 %

In der Fraktion "Wasserlösliche Substanzen" der Hornschicht bilden die freien Aminosäuren (AS) den größten Anteil mit rund 45 %, wie frühere Untersuchungen übereinstimmend zeigten (SPIER u. PASCHER ; STÜPEL). Sie machen somit ca. 15% des Hornschicht-Untersuchungsmaterials aus. Die freien AS wurden deshalb als Meßparameter ausgewählt.

Woher kommen die freien Aminosäuren im Stratum corneum?

Die ersten Untersucher hielten den wasserlöslichen Teil der Hornschicht inklusive der freien AS für ein vollständiges Derivat des Schweißes (ROTHMAN 1949). Der Schweiß durchdringt von außen her nur die äußersten Schichten des Stratum corneum. Es wurden in anderen Untersuchungen bereits im Stratum granulosum freie AS analysiert, die über die "Barriere" hin nachweisbar blieben (SZAKALL; ROTHMAN 1954). Ferner wurden tierexperimentell bei Mutanten ohne Schweißdrüsen freie AS im Stratum corneum gefunden (ROBERTS). Damit war bewiesen, daß die freien AS im WL der Hornschicht nicht ausschließlich sudorigenen Ursprungs sein können. Nach heutiger Kenntnis finden sich im Schweiß neben einer Reihe organischer Substanzen wie Harnstoff, Kreatinin und Harnsäure auch die freien AS ARG, THR, HIS, SER, GLU, ASP, PRO, MET und CYS; sie machen zusammen etwa 1-5 mg% aus (HERMANN; LEONHARDI 1953 und 1980; THIELE). Somit resultieren höchstens 10% des Bestands an freien AS im Stratum corneum aus dem Schweiß, die nur die obersten Lagen des Stratum disjunctum betreffen.

Als weitere Quelle der freien AS der Hautoberfläche wurde der Talg diskutiert. Die biochemischen Analysen ergeben nur einen Anteil von 3,5% an freien AS mit erhöhtem GLU- und HIS-Anteil (SPIER u. PASCHER 1959; STÜTTGEN). Dieser geringe Anteil kann, bei analoger Verteilung auf der Hautoberfläche, als "Aminosäuren-Quelle" für die Hornschicht vernachlässigt werden (SCHWARZ 1967).

Aus obigem ergibt sich, daß ein Großteil der freien AS der Hornschicht der Epidermis selbst entstammen. Auf die epidermis-spezifischen Stoffwechselvorgänge wird auf Seite 22 eingegangen.

Wodurch werden die freien AS der Hornschicht beeinflusst?

Von mehreren Arbeitsgruppen wurde ein charakteristisches Konzentrationsmuster der freien AS mit relativ hohen Anteilen an SER, GLY, ALA und CIT für die normale Haut erarbeitet (SCHWARZ 1967; SPIER und PASCHER; PRATZEL 1979). Bei dermatologischen Krankheitsbildern mit Dys- und Parakeratosen (z.B. Psoriasis, Ichthyosis, Callus) ließen sich quantitative und qualitative Veränderungen im AS-Muster ermitteln (SCHWARZ 1966; SCHWARZ 1969). Ferner fand sich in klinisch unauffälligen Hautarealen beim Atopischem Ekzem ein anderes AS-Muster (SCHWARZ 1969). Befunde bei Patienten mit Stoffwechselstörungen fehlen hingegen weitgehend.

Außerdem liegen nur vereinzelte Untersuchungen darüber vor, welche Faktoren das AS-Muster beeinflussen. Bei gesunden Probanden wurde untersucht, ob endogene Faktoren wie Alter, Konstitutionstyp, Haarfarbe, Augenfarbe mit den freien AS korrelieren (PRATZEL 1981; FRIES; MÜLLER; MAISTER; SCHWARZ): die Befunde sind teilweise widersprüchlich. Daneben wurde versucht, exogene Faktoren mit den jeweiligen AS-Mustern zu vergleichen (FRIES; PRATZEL); u.a. wurden bei 200 gesunden Probanden mittels Fragebogen verschiedene exogene Faktoren, z.B. Eßgewohnheiten erfaßt:

wenig / normal / viel Kohlenhydrat-Verzehr

wenig / normal / viel Fett - Verzehr

wenig / normal / viel Eiweiß - Verzehr

Bei der Auswertung dieser retrospektiven, auf subjektiver Einschätzung beruhenden Studie zeichneten sich fragliche Korrelationen zwischen den Ernährungsgewohnheiten und der Verteilung der freien AS der Epidermis ab (PRATZEL 1981).

Somit bot sich an, zu untersuchen, ob besondere Ernährungsbedingungen die chemische Zusammensetzung der Hornschicht beeinflussen können.

Dabei sind Auswirkungen von Störungen des Fettstoffwechsels und der Cholesterinsynthese auf die Keratinisierung bekannt (WINKELMANN; TROMOVICH; YARDLEY; STEINBERG; ELIAS; LAMPE). Trotz intensiver Literaturdurchsicht ließen sich weder AS-Befunde bei anderen Stoffwechselstörungen, noch Untersuchungen über Auswirkungen des Proteinstoffwechsels auf die Keratinisierung finden, ausgenommen hereditäre AS-Stoffwechselstörungen wie Phenylketonurie (FITZPATRICK).

Daher sollte die folgende prospektive Untersuchung klären:

1. Beeinflussen Stoffwechselstörungen die Zusammensetzung des AS-Musters im Stratum corneum?

Hierzu wurden Patienten mit verschiedenen, klinisch manifesten Stoffwechselstörungen untersucht :

a. Patienten mit Diabetes mellitus

b. Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz
(Dialyse-Patienten)

c. Patienten mit massiver, alimentär bedingter
Adipositas (Fettleibigkeit)

Ferner wurde die Frage überprüft:

2) Beeinflussen Stoffwechseländerungen das AS-Muster des Stratum corneum?

Eine extreme Stoffwechseländerung stellt ein mehrwöchiger kataboler Stoffwechsel dar. Dieser fand sich bei:

- a) Probanden mit 4-wöchiger Nulldiät
- b) Patienten mit 4-wöchiger parenteraler Ernährung (Postaggressionsstoffwechsel)
- c) Probanden mit 4-wöchiger Hay'scher Trennkost. Die Hay'sche Trennkost, eine "Außenseiter"-Diät, wird als milde Reduktionskost eingestuft.

Die AS-Muster der Epidermis wurden hierbei vor/nach "Diät" bestimmt.

II. PHYSIOLOGISCHE UND CHEMISCHE GRUNDLAGEN DER HAUT

A. Funktion und Anatomie

Beim Menschen bildet die Haut mit der darunter liegenden septierten Fettschicht eine ästhetische und funktionelle Einheit. Die Haut ist durch Farbe, Glanz, Behaarung, Elastizität und Faltenbildung für das äußere Erscheinungsbild mitbestimmend. Neben dieser ästhetischen Funktion erfüllt sie eine Sinnes- und Schutzfunktion, indem sie biologische, chemische, thermische, aktinische und mechanische Reize vermittelt bzw. abwehrt. In Zusammenhang mit letzteren sei erstens die große Pufferkapazität der Haut erwähnt, die durch die freien wasserlöslichen AS der Hornschicht mitbedingt wird. Diese Pufferkapazität wird im sogenannten Alkali-Neutralisationstest in der dermatologischen Diagnostik mitverwendet (LOCHER; BURCKHARDT). Zweitens seien der Oberflächenfilm der Haut mit seinen das Bakterienwachstum hemmenden Eigenschaften (pH 5-6) aufgeführt, und drittens die Barrierefunktion des Stratum corneum hinsichtlich Permeation und Perspiration (PINKUS 1964; BANDMANN 1980).

Ferner ist die Haut für die Thermoregulation des Körpers durch die Wärmeabgabe und die Schweißsekretion wichtig; darüber hinaus spielt sie für den allgemeinen Körperstoffwechsel als Syntheseort, Regulations- und Speicherorgan eine Rolle (FITZPATRICK; BRAUN-FALCO).

Die Haut stellt eines der größten Organe des Menschen dar. Ihre Oberfläche beträgt je nach Körpergröße und Gewicht 1,6 - 2 m² beim Erwachsenen. Die relative Oberfläche ist bei Kleinkindern größer; die veränderte regionale Verteilung bei ihnen wird im klinischen Bereich durch eine Modifikation der bekannten "Neuner-

regel" (Kopf 9%, Arm 9% etc.) berücksichtigt (BANDMANN; BETKE).

Das Gewicht des Organs "Haut" läßt sich nur schwer schätzen. Die Epidermis wird mit durchschnittlich 0,5 kg, die Dermis mit 3,5 -10 kg, die gesamte Haut inklusive subkutanem Fettgewebe sogar mit bis zu 20 kg Frischgewicht angegeben (PINKUS 1964; Stüttgen 1981).

Bekanntlich gliedert sich die Haut in die dem Ektoderm entstammende Epidermis und in das Korium, bestehend aus Papillarkörpern, Stratum fibrosum und Stratum reticulare. Darunter folgt die Subkutis. Die Grenze zwischen Korium und Epidermis bildet die PAS-reaktive, lichtmikroskopisch erfaßbare Basalmembran. Durch die ineinandergreifenden Reteleisten und Papillen ist die gesamte Epidermis mit dem Korium verzahnt (RUPEC 1980; GILCHREST). Diese Papillenbildung bewirkt eine starke Verfestigung der Epidermis gegenüber dem Korium. An bestimmten Körperstellen, z.B. der Fingerbeere, ist ein individuell variierendes, genetisch festgesetztes Papillarleistenmuster fixiert, was z. B. von Genetikern, Kriminologen und Anthropologen genutzt wird (PINKUS 1964). Ansonsten ist die Haut durch eine Verschiebeschicht über Skelett, Muskeln und Schleimhäuten an den meisten Körperstellen beweglich (BANDMANN).

Die starke Verzahnung der Epidermis bewirkt auch eine Vergrößerung der Oberfläche; dies ist für den Stoffwechsel der gefäßlosen Epidermis wesentlich, weil sie nur per Diffusion aus dem Gefäßnetz des Stratum papillare versorgt wird.

Aus der Vergrößerung der Basalmembran resultiert auch eine Vermehrung der epidermalen Basalzellen: gegenüber der Zellschicht des Stratum corneum wird hierdurch eine Zell-Relation von ca. 20:1 erreicht, was bei regenera-

tiven Vorgängen eine große Reserve darstellt.

Die Epidermis selbst erreicht, je nach Lokalisation, eine Dicke von 0,04 - 0,23 mm, im Durchschnitt 150 µm, im Schwielenbereich bis zu 2 mm. Der Anteil der Hornschicht schwankt, je nach mechanischer Inanspruchnahme, zwischen 20 - 30 µm mit Maxima an der Fußsohle bis 0,1 mm (MIESCHER; ODLAND).

Die Epidermis gliedert sich in 4 Schichten:

Stratum basale

Stratum spinosum

Stratum granulosum

(Stratum lucidum)

Stratum corneum

Im Stratum basale liegen in 1 bis 2 Schichten die Keratinozyten der Basalmembran auf. Auf weitere, neben den Keratinozyten vorkommenden Zellen wie Melanozyten, Langerhans-Zellen und Merkel-Zellen, die rund 15% der Zellpopulation stellen, wird nicht näher eingegangen, da sie für die Versuchsanordnung nicht relevant sind.

Die Zellen des Stratum basale sind histologisch durch ihre zylindrisch bis kubische Form und dunkelblau tingierte, nahe der Basalmembran gelegene Kerne gekennzeichnet, durch ein basophiles Zytoplasma und eine reiche Ausstattung mit Zellorganellen, vor allem Mitochondrien. Dies entspricht dem intensiven Stoffwechsel dieser Zellschicht (HERMANN; RUPEC 1980). Ferner finden sich im Zytoplasma bereits Keratinfilamente; diese bilden über mehrere Zellschichten hinweg und in das Korium hinein ein trajektorial ausgerichtetes System, das zur Festigkeit mitbeiträgt. Diese Tonofilamente gehen später in die Keratinstruktur mit ein. Ansonsten haften die Zellen durch desmosomale Verbindungen fest aneinander, und weisen partiell bis in das Stratum

granulosum hinein eine säulenartige Struktur auf. Im Stratum spinosum (3-5 Zellschichten) findet sich dann einerseits eine Abflachung der Zellen, andererseits eine Zunahme des Zytoplasma-Volumens um das 4-6fache. Ferner bilden sich die Tonofilamente respektive die Keratinfibrillen stärker aus, was den Zellen ihren stachelzellartigen Charakter verleiht. Außerdem treten in der Nähe des Golgi-Apparates als Zellorganellen die ODLAND-Körperchen auf (nach anderer Nomenklatur MCG (membrane coating granula) bzw. "lamellar bodies"); diese wandern allmählich in die Zellperipherie und entleeren ihren Inhalt bei der Keratinisierung in den Interzellularraum (FITZPATRICK; ODLAND; RUPEC).

Die nächste Epidermisschicht, das Stratum granulosum (3-7 Zellschichten), ist histologisch charakterisiert durch ein weiteres Abflachen der Zellen mit unveränderter Kern/Zytoplasma-Relation und dem gehäuften Auftreten von weiteren, lichtmikroskopisch intensiv anfärbbaren Granula im Zytoplasma, den sogenannten Keratohyalin granula (BADEN; MATOLTSY; SCHWARZ; RUPEC). Diese füllen das Zytoplasma immer mehr aus, und gaben den Zellen ihren Namen. Ferner kommt es neben der Verminderung von übrigen Zellorganellen zu einer erheblichen Zunahme der lysosomalen Leitenzyme, (Phosphatasen etc.) die teilweise in freier Form im Zytoplasma vorliegen (BRODY 1968; RUPEC 1980; SCHWARZ 1979). Daher wird diese Schicht auch als zweites Enzymlager (Zelldifferenzierung) bezeichnet (KORTING).

Im Elektronenmikroskop lassen sich dann, allerdings als diskontinuierliche Zellfolge, die sogenannten T-Zellen (RUPEC) abgrenzen, die bereits das Keratinmuster der Hornzelle, daneben aber noch Merkmale des Stratum granulosum aufweisen (RUPEC 1980).

Die Verhornung selbst tritt abrupt ein: sie umfaßt die

strukturelle Auflösung der Zellorganellen wie Mitochondrien, Ribosomen, endoplasmatisches Reticulum, Verlust des Zellkerns und Zelltod, Minderung des Wassergehalts von 70 auf 10%, pH-Änderung, Ausbildung des intracellulären "Keratin-pattern" und zusätzlicher Zellmembranen (RUPEC 1981; ELIAS; FREEDBERG).

Das bei der Orthokeratose nur noch anukleäre Zellen enthaltende Stratum corneum wird in eine 5-7 Zellschichten umfassende Pars conjuncta mit festem Zellverband, und in eine, je nach mechanischer Belastung, 3-15 Schichten umfassende Pars disjuncta mit "losen" Hornschuppen unterteilt. Das nur in manchen Bereichen vorhandene, dazwischen liegende Stratum lucidum ist durch eine besonders intensive Durchträngung mit Eleidin und eine elektronenoptisch dichtere Grundsubstanz ausgezeichnet. Seine Funktion ist noch unbekannt, wohingegen der Pars conjuncta im wesentlichen die Barriere-Funktion hinsichtlich Penetration und Permeation zugesprochen wird (SCHWARZ 1967; KLASCHKA; ELIAS; ODLAND).

Die histologische Untersuchung des Stratum corneum zeigt als typischen Zellinhalt das Keratin (ca. 85%) mit seinem charakteristischen ultrastrukturellen Muster, eingebettet in eine amorphe Grundsubstanz. Zellorganellen oder -kerne liegen im normalen, ausgereiften Korneozyten nicht mehr vor. Die Zellmembran ist an der Innenseite durch eine zusätzliche, Disulfidgruppen enthaltende Membran von 100Å verdickt, desgleichen an der Außenseite durch eine Glykokalyx-Schicht (Glykoproteolipide) (FRITHIOF; SILBERT). Dies gibt der Membran ihre hohe mechanische und chemische Widerstandsfähigkeit (SCHWARZ). Ferner werden die Desmosomen abgebaut; die Interzellularräume erweitern sich in der Pars disjuncta auf bis zu 2 µm, und sind nur noch von einer amorphen Kittsubstanz ausgefüllt.

Diese Interzellulärsubstanz stammt teilweise von den ODLAND-Körperchen, und gliedert sich, nach Umbau der Lipidfraktionen, lamellär in hydro- und lipophile Schichten, die für die Permeationseigenschaften der Hornschicht eine wichtige Rolle spielen (PRATZEL 1985; YARDLEY). Histologisch nicht erfassbar ist der in vivo vorhandene vom Schweiß und Talg herrührende Oberflächenfilm, der die obersten Schichten mitdurchtränkt (RUPEC 1980; BRODY; SCHWARZ 1979; FITZPATRICK; GOLDSMITH).

B. Epidermopoese

Auf die Epidermopoese wird nachfolgend kurz eingegangen, da sie bei der Versuchsanordnung berücksichtigt werden mußte.

Die Epidermis stellt ein typisches "Mauergewebe" (mit einer relativ langen Regenerationszeit) dar: der Zellverlust an der Oberfläche durch Abschilferung steht im Gleichgewicht mit der basal stattfindenden Neubildung, sodaß die Zellzahl konstant gehalten wird (PINKUS).

Die genauen Regulationsmechanismen dieser Zellhomöostase sind noch nicht bekannt; Alter, Geschlecht, UV-Licht, regionale Verteilung, mechanische Faktoren und Verletzung spielen ebenso eine Rolle wie humorale Faktoren z.B. Adrenalin, Prostaglandine, Kortikosteroide und lokale humorale Faktoren (Chalone) (BULLOUGH; SCHWARZ 1979; FUKUYAMA; BRODY; CHRISTOPHERS).

Der Mitose-Index liegt beim Erwachsenen bei rund 1,5/1000 Zellen (WEINSTEIN 1965 und 1983). Inkorporationsversuche mit radioaktiv markierten Substanzen zeigten, daß in der Epidermis nur im Stratum basale Mitosen stattfinden, dort allerdings in beiden Schichten (FUKUYAMA 1968; WEINSTEIN). Ferner gehören höchstens

20% der Zellen dieser Schicht zum regenerativen Pool, die anderen wandern "auf Abruf" in die Peripherie (WEINSTEIN). Daher sind die Untersuchungen über den genauen zeitlichen Verlauf der eigentlichen Zellteilung der Keratinozyten sehr erschwert; die Befunde schwanken zwischen 6 und 45 Tagen (FUKUYAMA 1975; PLEWIG; SCHWARZ; WEINSTEIN).

Wichtiger für die Versuchsanordnung ist die Durchwanderungszeit ("transit time"): für das Durchwandern vom Stratum basale bis zum Stratum granulosum werden von den meisten Untersuchern 7- 14 Tage veranschlagt (CHRISTOPHERS; WEINSTEIN). Im Stratum corneum wird dann täglich eine Schicht abgeschilfert, sodaß eine Zelle nach 28 Tagen vom Stratum basale aus die Hautoberfläche erreicht (SCHWARZ; CHRISTOPHERS; BADEN). Auf die deutlich verkürzte Regenerationszeit bei bestimmten Hauterkrankungen, z.B. der Psoriasis, wird verwiesen; desgleichen auf den von einigen Untersuchern genannten größeren Zeitraum (BANDMANN; KORTING; WEINSTEIN).

Somit hat nach 28 Tagen eine weitgehende Erneuerung der oberflächlichen Schichten der Epidermis stattgefunden. Daher konnten nur die Stoffwechselprozesse dieser 4 Wochen, z.B. extrem katabole Stoffwechsellage bei der Nulldiät, Einfluß auf die biochemische Zusammensetzung des Gewebes nehmen. Aus diesen Gründen wurde für den zweiten Teil der Versuchsanordnung ein Zeitabstand von 28 Tagen gewählt, nach dem eine weitere Gewebeentnahme an der Hautoberfläche erfolgte (siehe Methodik).

C. Stoffwechsel der Epidermis

Die Epidermis läßt sich in 3 funktionell unterschiedliche Gewebsabschnitte unterteilen, einen proliferativen Teil (= Stratum basale), einen sich differenzierenden Teil (= Stratum spinosum und granulosum) und einen funktionellen Teil (= Stratum corneum), die sich in ihrem Stoffwechsel qualitativ und quantitativ unterscheiden. Ferner weist das Korium andere Stoffwechselcharakteristika auf (FITZPATRICK; ROE; SHERERTZ).

Neben dem allgemeinen Erhaltungs- und Baustoffwechsel treten organspezifische Stoffwechselleistungen wie die Melaninbildung oder die Keratinisierung auf. Ferner erfüllt die Haut z.B. mit der Cholesterin- und der Vitamin-D-Synthese weitere, für den Gesamtorganismus wichtige Stoffwechselleistungen (GOLDSMITH; STÜTTGEN). Hierauf soll im einzelnen nur, soweit von der Versuchsanordnung her erforderlich, eingegangen werden.

Der Stoffwechsel der Epidermis ist allgemein dadurch gekennzeichnet, daß die Substrate nur per Diffusion aus dem Korium in die Epidermis gelangen. Diese besitzt in vielfältiger Form bis zum Stratum corneum die Möglichkeit zu Synthesen, z.B. von Lipiden, Proteinen und Nukleotiden, wie entsprechende in-vivo und in-vitro-Versuche ergaben (FREEDBERG; FREINKEL; FRÄKI; YARDLEY). Die reiche enzymatische Ausstattung der Epidermis wurde mit diversen Techniken nachgewiesen (Tab. 99 und 100, STÜTTGEN).

Die Energiegewinnung der Epidermis ist vor allem durch eine ausgeprägte "oxydative" Glykolyse bis zum Laktat und einen intensiven oxydativen Abbau von Fettsäuren charakterisiert (FREINKEL; YARDLEY; ELIAS). Nachfolgend werden die einzelnen Stoffwechselparameter kurz dargelegt.

Kohlenhydratstoffwechsel

Glykogen:

Das Glykogen ist im allgemeinen im Stratum spinosum und granulosum gespeichert, kann aber bei gesteigerter mitotischer Aktivität (z.B. Psoriasis) auch im Stratum basale nachgewiesen werden. Der mittlere Glykogengehalt beträgt 65-80 mg% bezogen auf das Frischgewicht (HALPRIN). Eine Synthese aus Glukose ist über Glukose-1-Phosphat und UDP möglich (FREINKEL).

Glukose:

Die Glukose stellt die zentrale Substanz der energieliefernden Prozesse dar. Ihr Gehalt in der Epidermis beträgt 30-60 mg% bezogen auf das Frischgewicht. Bei i.v. Infusionen von Glukose kann die Epidermis temporär bis zu 20% der infundierten Glukose speichern (PETERKA; HALPRIN). Bei Diabetikern besteht eine lineare Beziehung zwischen dem Zuckergehalt der Haut und des Bluts: der Glukosespiegel der Epidermis und des Korium erreichen zwei Drittel des Blutzuckerspiegels (FLEISCHMAJER).

Hinsichtlich des Glukoseabbaus gilt das allgemeine Schema; entsprechende Enzyme wurden vollständig nachgewiesen. Dennoch ist die Glukose-Utilisation der Epidermis von einigen Besonderheiten gekennzeichnet:

- Ca. 5-10% werden zu Glykogen umgewandelt via Steuerung durch UDPG.
- Ein relativ hoher Prozentsatz, etwa 5-25%, wird in den Pentosephosphatzyklus eingeschleust zur Bildung von NADPH_2 für die Fettsäuresynthese. Dieser Stoffwechselgang ist bei einigen Krankheitsbildern signifikant erhöht.
- Der Rest wird über den Hauptweg der Glykolyse zu Fruktose-6-Phosphat umgewandelt. Die weitere Utilisation

endet überwiegend beim Laktat; nur 2-5% werden letztlich im Zitratzyklus utlisiert. Dies ist unabhängig vom Sauerstoffpartialdruck, d.h. ein Pasteur-Effekt lbt sich nicht nachweisen ("Stratum anoxybioticum" nach FERREIRA-MARQUES). Es werden daher nur ca. 10% des Sauerstoffs für die Glukose-Utilisation benötigt. Weitere 25% des Sauerstoffverbrauchs werden im Pentosephosphatzyklus verwandt. Neben der Glukose sind auch weitere Stoffwechselwege von Kohlenhydraten, z.B. Glukuronsäure-Verarbeitung und Uronsäure bekannt (HALPRIN; PETERKA; BRODY; STÜTTGEN; FREINKEL). Insgesamt ist, gemessen an der Zahl der Mitochondrien, eine deutliche Stoffwechselreduzierung vom Stratum basale zum Stratum granulosum zu verzeichnen (BRODY; RUPEC).

Fettstoffwechsel

Analog zum Kohlenhydratstoffwechsel konnte für den Fettstoffwechsel in der Epidermis ein Auf-und Abbau nachgewiesen werden. Hinsichtlich des oxydativen Fettsureabbaus ist bemerkenswert, daß er in der Epidermis, in enger Relation zum Pentosephosphatzyklus (NADPH_2) besonders konzentriert abläuft. Das Verhältnis zwischen keratinisierender Hornschicht und nicht verhornender Schleimhaut beträgt dabei ca. 30:1.

Beim Lipidaufbau scheinen sämtliche Intermediär-Stoffwechselprodukte, die dafür in Frage kommen, wie verzweigt-kettige AS, kurzkettige Fettsäuren und Glukose verwandt zu werden, wie Inkorporationsversuche zeigten (WHEATLEY; FREINKEL 1983). Die zentrale Kopplungsstelle stellt das Acetyl-Co-A dar. Insbesondere der hohe Verwendungsquotient von verzweigt-kettigen AS (ILE, LEU) wird mit dem relativ großen Anteil an verzweigt-kettigen Fettsäuren in den epidermalen Lipiden in Ver-

bindung gebracht. Daneben findet auch eine intensive de novo Cholesterinsynthese statt (mit unveresterten Intermediärprodukten), die im Stratum corneum einen Teil der freien Valenzen liefert (FREINKEL; JARRETT). Darüber hinaus erbrachten die Untersuchungen der letzten Jahre weitere massive Verschiebungen im Lipidspektrum innerhalb der Epidermis :

Die Phospholipide und Sphingomyeline werden nahezu vollständig umgewandelt, vor allem Ceramide, Cholesterin und freie Fettsäuren gebildet; diese massiven Änderungen betreffen auch die Interzellularsubstanz, und führen dort zu der lamellären Struktur derselben im Stratum corneum (ODLAND; ELIAS; YARDLEY).

Andere Details bei intrazellulären Strukturen, z.B. ob die Keratohyalin granula neben dem HIS-reichen Protein ein polares Lipid enthalten, sind noch offen (GOLD-SMITH). Ansonsten werden lipide Einschlüsse im Keratin nicht mehr als pathologisch gewertet (ORFANOS).

Trotz des intensiven Lipidstoffwechsels in den unteren Schichten der Epidermis liefert diese nur ca. 4-6 % des "Hornfetts"; der übrige Teil stammt vom Talg, der von außen her in die obersten Schichten des Stratum corneum eindringt. Auf die andere Zusammensetzung des Talgs (Squalen statt Cholesterin, überwiegend Triglyceride, die erst später durch bakterielle Lipasen aufgetrennt werden) und die wichtigen funktionellen Aufgaben dieses Kompartiments-pH-Beeinflussung und Bakterizide durch freie Fettsäuren, Hygroskopizität etc.- soll nicht weiter eingegangen werden; die Zusammensetzung ist in Tab.2.0 aufgeführt (SCHWARZ; HERMANN; WHEATLEY; YARDLEY; LEONHARDI).

In jedem Fall spielen die Veränderungen des Lipidgemisches in der Epidermis für die Keratinisierung und Funktion des Stratum corneum bei der Permeation eine wichtige Rolle (ELIAS; PRATZEL 1985; ODLAND).

Tab.2.0: Zusammensetzung der epidermalen Lipide
(modifiziert nach FITZPATRICK, LEONHARDI)

Lipid- fraktion	Talg %	Epiderm. Lipide %	Stratum basale %	Stratum corneum %	Hautober- flächen- lipide
freie Fett- säuren	5	20	7,0	12,3	15
Triglyceride	-	17	12,4	25,2	37
Mono/Di-Gly- ceride	50	6			5
Squalen	10	3	4,8	4,9	10
Sterol/Wachs ester	20	8	5,3	5,4	21
Paraffine	5	15	11	14	2
Cholesterin/ "-ester	5	18			7
Sphingolipid Ceramide			7,3	18,1	
Phospholipid	5	9	44,5	4,9	4

Nukleotide und Eiweißstoffwechsel

Die im Zellkern lokalisierten Desoxyribonukleotide setzen sich in der Epidermis aus 19 Mol % Guanin, 20,5 Mol % Cytosin, 19 Mol % Adenin und 28,5 Mol % Thymin zusammen (HERMANN; LEONHARDI). Eine DNS-Synthese findet, wie die Versuche mit radioaktiv markierten Tracern ergaben, in der Epidermis ausschließlich im Stratum basale statt (FUKUYAMA; BRAUN-FALCO; SCHWARZ 1967; FRÄKI e.a.).

Für die RNS-Synthese läßt sich ein zweites Maximum im Stratum granulosum lokalisieren. Dies dürfte mit den verschiedenen differenzierenden Stoffwechselprozessen und Proteinsynthesen, z.B. Keratohyalin-Granula und Keratin-Filamenten, zusammenhängen (zweites "Enzymlager" nach KORTING). Der eigentliche Nukleotid-Aufbau ist mit dem allgemeinen Stoffwechsel identisch (HERMANN; FUKUYAMA; KORTING).

Der Purin-Derivate-Abbau verläuft beim Menschen in der Epidermis wegen der fehlenden Xanthinoxidase nicht bis zur Harnsäure. Daher finden sich in normal verhornender Haut Xanthin und Hypoxanthin, bei Dys- oder Parakeratosen zusätzlich andere, unvollständig abgebaute Nukleotide (SCHWARZ; HERMANN; TABACHNIK). Für die Pyrimidinderivate ist der Abbau noch hypothetisch. Da sich keine Derivate im Stratum corneum nachweisen lassen, wird ein teilweiser Abtransport durch das Blut vermutet (SCHWARZ 1967).

Die Proteine bzw. Proteinsynthese steht in engem Zusammenhang mit der obigen Nukleotidsynthese. Prinzipiell kommen bis auf die β -2-Globulinfraktion sämtliche Proteinfraktionen des Blutes auch in der Epidermis vor. Allerdings weisen sie eine andere Verteilung auf. Daneben lassen sich weitere Proteine und Peptide feststellen (RUZICKA; RODERMUND; GILMARTIN).

Hinsichtlich des Auf- bzw. Abbaus der Proteine bestehen keine für die Thematik wesentlichen Besonderheiten (HERMANN; TABACHNIK).

Die freien AS gelangen entweder durch Diffusion aus dem Korium in die Epidermis, oder sie werden in den Epidermiszellen selbst synthetisiert. Die wichtigsten Enzyme hierzu, Transaminasen, Decarboxylasen und Desaminasen wurden nachgewiesen (STÜTTGEN). In der Epidermis kommen mit Ausnahme von Cystein sämtliche AS vor, jedoch finden sich deutliche quantitative Unterschiede gegenüber Blutplasma und anderen Geweben (siehe Tab. 5.2).

Was die Utilisation der freien AS betrifft, so differieren, je nach verwendetem Tracer, die Befunde etwas: für das Stratum basale wird meist eine relativ vermehrte Inkorporationsrate für LEU, MET, PHE, VAL und LYS, für das Stratum granulosum ein erhöhter Einbau von HIS, ARG, GLY, SER und CYS angegeben (FUKUYAMA 1975; HERMANN; SCHWARZ 1979; FRÄKI; GOLDSMITH).

Beim AS-Abbau tritt in der Epidermis für den AS-Stickstoff der Harnstoffzyklus in den Vordergrund: von diesem Zyklus ist zwar das Enzym Ornithin-Carbamyl-Transferase bisher in der menschlichen Epidermis nicht nachgewiesen worden, aber die anderen Teile des Harnstoffzyklus, wie z.B. CIT sind vorhanden (SCHWARZ 1979; HERMANN; PRATZEL).

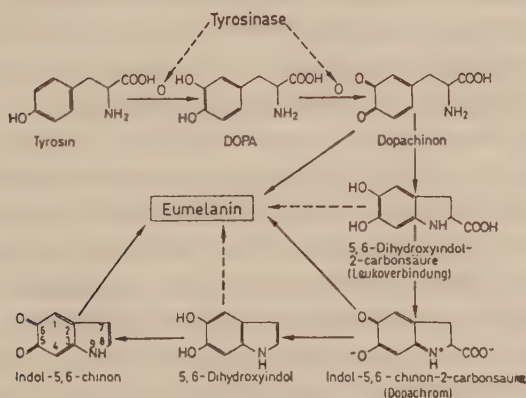
Ferner findet sich das Enzym Arginase in hoher Konzentration, nämlich im Verhältnis 25:1 gegenüber dem Korium, in der Epidermis. Die Arginase darf somit als epidermisspezifisches Hautenzym bezeichnet werden (ROTHBERG). Eine weitere "epidermis-typische" Abbaureaktion bei Orthokeratose stellt die Umwandlung von HIS in UCS dar (HERMANN; SCHWARZ; ROGERS 1962 u. 1964). Über das Zusammenspiel mit anderen abbauenden Enzymen, z.B. beim Zellabbau und -Umwandlung in den Korneozyten, liegen noch sehr wenige detaillierte Angaben vor.

Epidermis-spezifische Stoffwechselprodukte

An dieser Stelle sollen nur kurz zwei dem Eiweißstoffwechsel entstammende Reaktionen, nämlich die Melaninbildung und die Keratinisierung aufgeführt werden.

a. Melanin: Den Ausgangspunkt der Melaninbildung stellen die AS TYR bzw. PHE dar (siehe Abb. 2.1). Der Reaktionsablauf, katalysiert von der Tyrosinase, geht aus Abb. 2.1 hervor. Die das Pigment enthaltenden, im Zytoplasma der Melanozyten befindlichen Melanosome werden im Stratum basale und spinosum in die Keratinozyten eingeschleust und um den Zellkern gelagert (zum Schutz vor UV-Strahlung). Im Verlauf der Keratinisierung erfolgt dann ein nochmaliger Umbau in die endgültige Form des Melanins. Die Unterschiede der beiden Hauptformen, des Eumelanins und des Phäomelanins, sind in den entsprechenden Monographien detailliert dargestellt (BENNINGHOFF; KARLSON; HERMANN; GOLDSMITH 1983).

Abb.2.1: Schema der Melaninbiosynthese (n. FITZPATRICK)



b. Keratinisierung: Bei der Keratinisierung spielen mehrere Proteinkomplexe zusammen:

1. Die Keratinfilamente : diese fibrösen Filamente, partiell als Tonofilamente oder α -Keratin deklariert, sind als Fibrillen bereits in den Epidermiszellen des Stratum basale nachweisbar. Generell kennzeichnen diese intermediären Filamente dieses Typs sämtliche dem Ektoderm entstammenden Zellen (SUN; GREEN; FRANKE). Im Zuge der allmählichen Differenzierung werden sie vermehrt synthetisiert und zu größeren Aggregaten polymerisiert, wobei zwei Hauptfamilien von Keratinproteinen mit jeweils mehreren Untergruppen, insgesamt 19, diese in unterschiedlicher Weise bilden (GREEN; SUN; McGUIRE; FUCHS). Je nach Extraktionsverfahren resultieren daraus sehr unterschiedliche Proteinfractionen (SCHWARZ; MATOLTSY; ELIAS; GOLDSMITH), die aber alle zu den fibrösen α -Keratinen zählen. Bei der Verhornung selbst entsteht wohl unter Mitwirkung des Filaggrin eine intensive Polymerisation und Quervernetzung, deren genaue Mechanismen noch unbekannt sind, mit gleichzeitiger Einbettung in die amorphe Grundsubstanz des Korneozyten (LAZARIDES; ODLAND; STEINERT). Daraus resultiert das "Keratin pattern" (ROGERS; SCHWARZ; BADEN; GOLDSMITH; FITZPATRICK.)

2. Die Keratohyalingranula: diese intrazytoplasmatischen membranlosen Zellorganellen entstehen im Stratum granulosum. Ihr scholliger, basophiler Inhalt besteht zum größten Teil aus Filaggrin, einem Proteinkomplex, dessen Hauptbestandteil das "HIS-reiche" Protein darstellt (DALE). Dieses enthält vor allem HIS, SER, GLY, GLU und ARG, die zusammen 78% der gesamten AS der Keratohyalingranula ausmachen sollen (BERNSTEIN 1972 und 1983; UGEL). Über den übrigen Inhalt der Keratohyalingranula - ein polares Lipid, fraglich RNS-Anteile (84 RNS-Teile/Stück), andere Lipoproteine - liegen differie-

rende Befunde vor (ELIAS; GOLDSMITH; FITZPATRICK). Dieses Filaggrin bewirkt in den Korneozyten die Vernetzung der Keratinfilamente. Dabei scheinen das Fehlen von Vitamin A, der Ca^{++} -gehalt, die pH-Änderung, Enzymaktivitäten z.B. der Transglutaminasen und Umänderungen des HIS-reichen Proteins mitzuwirken. Ein Teil des Inhalts der Keratohyalin granula geht ferner in die amorphe Grundsubstanz der Zellen ein (UGEL; SCHWARZ; MATOLTSY; ROGERS ;BRODY; FITZPATRICK; DALE; BERNSTEIN).

3. Involucrin und Keratolinin: Diese beide Proteine, das eine 92000 Dalton groß, das Keratolinin 36000 Dalton groß, lassen sich spätestens im Stratum granulosum in der Zellperipherie nachweisen (RICE und GREEN; BUXMAN; PETERSON). Hinsichtlich der histochemischen Details, z.B. den CIT-Gehalt von Keratolinin, darf auf die entsprechende Literatur verwiesen werden (FREEDBERG; RICE and GREEN). Diese beiden Proteine stellen im wesentlichen die zusätzliche "innere " Verstärkung der Zellmembran des Korneozyten. Die hohe mechanische und chemische Festigkeit wird dabei vor allem durch e-(γ -Glutamyl)-Lysin-Bindungen bedingt. Ferner tragen Disulfidbrücken und ein hoher S-Gehalt zur Festigkeit dieser Membran bei (RICE; GREEN; BUXMAN; ELIAS; MATOLTSY; BRODY; ROGERS).

4. Die ODLAND-Körperchen, auch MCG (Membrane coating granula), lamelläre Körperchen bzw. Keratinosomen genannt: Die ca. 100 Å großen Granula entstehen in den oberen Schichten des Stratum spinosum. Sie wandern im Stratum granulosum zur Peripherie der Zellen und häufen sich dort an. Bei der Verhornung werden sie in den Interzellularraum ausgestoßen. Sie stellen ca. 40% des Volumens (ODLAND; FREINKEL; YARDLEY; FREEDBERG). Ein Teil ihres Inhalts, die Lipide und Glykoproteine, erfahren enzymatisch einen massiven Umbau; z.B. entstehen freie Fettsäuren, Neutrallipide und Glykosid-

amine. Diese bilden zum einen den lamellär angeordneten Interzellulärkitt mit seinen wechselnden lipo- und hydrophilen Schichten, zum anderen eine zusätzliche Verstärkung der äußeren Zellmembran des Korneozyten (Galaktosamin-Glykoside etc.), die extrem resistent ist (ODLAND; FUKUYAMA; MATOLTSY; SCHWARZ; UGEL).

5. Bei der Keratinisierung entstehen ferner neben den Veränderungen im Korneozyten die kleinmolekularen wasserlöslichen Bestandteile der Hornschicht, die als "Schlacke" der Verhornung bezeichnet wurden (SCHWARZ). Bei der chemischen Untersuchung der Hornschicht finden sich konstant folgende 4 Fraktionen:

Tab. 4.1: Analyse von Hornschichtschabseeln (nach STÜTTGEN, SPIER 1964, SPIER u. PASCHER)

	Mittelwerte in % des Gesamt- Wasserlös- materials lichen	
1) Wasser	8,5 (2-10%)	
2) Skleroproteine (Rohkeratin)	54,0 (50-58%)	
Ätherlöslicher Anteil	11,2	
3) Wasserlöslicher Anteil	26,3 (-42%)	
Freie Aminosäuren im WL	12,1	45,8
Polypeptide	0,4	1,3
Ammoniak	0,12	0,45
Harnstoff	1,7	6,6
Harnsäure	0,03	0,1
Na, K, Ca	2,7	9,9
Phosphat, Sulfat, Chlorid	2,6	9,9
Milchsäure	4,05	16,0
Citronensäure	0,02	0,1
4) Lipide	2 - 20	
Nicht identifizierte Stoffe	5,0	20,6

In der Fraktion des WL stellen die freien AS mit 35 bis 42% den größten Anteil; interessanterweise finden sich nur 2 - 4% wasserlösliche Proteine, die bei der diskoelektrophoretischen Auftrennung ein breites Spektrum ergeben. Weitere Anteile des Wasserlöslichen der Hornschicht sind Laktat (ca.15%), Pyrrolidonsäure (ca.10%), Kohlenhydrate (5%), Harnstoff (bis zu 5%), Chloride (5%) und anorganische Bestandteile (1-5%)(SPIER u.PASCHER; SCHWARZ; FRÄKI; GOLDSMITH).

III. MATERIAL UND METHODE

A. Patienten

Zur Messung des gewählten Untersuchungsparameters "freie AS der menschlichen Haut" wurden Hornschicht-abrisse nach der " Stripping-Methode " durchgeführt, die auf S.32 genauer beschrieben wird. Als Probanden stellten sich Patienten zur Verfügung, die zur Behandlung ihrer Stoffwechselstörung oder zur Diät stationär aufgenommen wurden. An dieser Stelle sei den entsprechenden Kliniken (II. Med. Klinik, Klinikum Großhadern, und Krankenhaus für Naturheilweisen, München- Harlaching) herzlich gedankt. Probanden, bei denen durch Fragebogen und persönliche Gespräche auffällige Hautveränderungen oder -erkrankungen, Allergieneigung, ausgefallene Bade- und Reinigungsgewohnheiten, ausgefallene Eßgewohnheiten bzw. Nahrungszusammensetzung oder Multimorbidität ermittelt wurden, wurden in die vorliegenden Ergebnisse nicht miteinbezogen.

Die Aufteilung der Patienten nach Geschlecht und Alter ist, aufgeschlüsselt nach Gruppen, in Tabelle 3.1 wiedergegeben. Der erste Teil der Untersuchung, betreffend Patienten mit Stoffwechselstörungen/-erkrankungen, umfaßte letztlich 47 Patienten in 4 Gruppen :

Gruppe 1 : n = 15 Kontrollgruppe; normalgewichtige, gesunde Probanden

Gruppe 2 : n = 10 Patienten mit Diabetes mellitus

Gruppe 3 : n = 10 Patienten mit Urämie

Gruppe 4 : n = 12 Patienten mit Adipositas

Um festzustellen, ob durch die Ernährung die Zusammensetzung der freien AS der Haut beeinflusst werden kann, wurde im zweiten Teil bei 25 Patienten als möglichst extreme Ernährungsform ein mehrwöchiger kataboler Stoffwechsel ausgewählt:

Gruppe 5 : n = 12 Hay'sche Trennkost; vor/nach 4 Wo.
 Gruppe 6 : n = 10 Nulldiät; vor/nach 4 Wochen
 Gruppe 7 : n = 3 Parenterale Ernährung (Postagres-
 sionsstoffwechsel) nach 4 Wo.

Tab.3.1: Alters-u. Geschlechtsverteilung d. Patienten

Gruppe	Geschlecht		Alter		
	w	m	19-24J	25-50J	51-63J
Kontrollgr.	8	7	4	9	2
(n=15)					
Diabetes mell.	6	4		3	7
(n=10)					
Urämie	4	6		7	3
(n=10)					
Adipositas	10	2	1	6	5
(n=12)					
Hay'sche Trenn- kost(n=12)	7	5	3	7	2
Nulldiät	8	2	1	5	4
(n=10)					
Parenterale Ernährung(n=3)	0	3		3	

Im nachfolgenden werden die Gruppen detailliert be-
 schrieben:

Gruppe 1 : Kontrollgruppe

Es handelt sich um 15 gesunde Probanden, überwiegend
 Arzt- und Pflegepersonal des Krankenhauses für Natur-
 heilweisen, München -Harlaching, Sanatoriumsplatz. Die

ärztliche Untersuchung und die Laborbefunde waren unauffällig. Das Körpergewicht lag maximal 15 % über dem Normalgewicht gemäß **Broca-Index** (= Körperlänge (cm) - 100 (kg)). Diese Gruppe wurde daher als Kontrollgruppe verwandt.

Gruppe 2 : Patienten mit Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus war bei den Patienten durchschnittlich 3,4 Jahre bekannt. Die Patienten kamen zur besseren Einstellung ihrer Glukosewerte zur stationären Aufnahme. Die Mittelwerte (Mittelung aus vier Morgen-Nüchtern- Blutzuckern) lag bei 268 ± 68 mg%. Die übrigen klinischen Befunde ergaben nach Auskunft der behandelnden Ärzte keine Hinweise für weitere signifikante Stoffwechselstörungen. Das Körpergewicht der Patienten lag zwischen 5 und 28% über dem Normalgewicht gemäß **Broca-Index**. Die Hälfte der Patienten war insulinpflichtig; die durchschnittliche Tagesdosis lag bei 32,5 Einheiten Insulin. Die anderen Patienten wurden mit oralen Antidiabetika, z.B. Euglucon 5, vor der stationären Aufnahme behandelt.

Die Hautabrisse wurden während der ersten zwei Tage des stationären Aufenthalts abgenommen.

Gruppe 3 : Patienten mit Urämie

Bei allen Patienten lag eine terminale Niereninsuffizienz mit einer mittleren Anamnesedauer von 1,4 Jahren vor. Das Restharnvolumen lag unter 100 ml/ Tag, die Kreatininwerte über 10 mg%. Die Patienten kamen 2-3 mal pro Woche zur ambulanten Hämodialyse, die in der II. Med. Klinik, Klinikum Großhadern, durchgeführt wurde. Nach Auskunft der behandelnden Ärzte lagen neben der Erhöhung der harnpflichtigen Substanzen keine weiteren Stoffwechselerkrankungen vor.

Die Hautabrisse wurden am Tag der Dialyse durchgeführt.

Gruppe 4 : Patienten mit Adipositas

Die Adipositas war bei allen Probanden ausschließlich alimentär bedingt. Nach dem **Broca-Index** hatten 10 von 12 Patienten mehr als 30% Übergewicht mit einem Maximum von 58% (135 kg); bei den anderen zwei Patienten lagen 27% bzw 29% Übergewicht vor. Nach Auskunft der behandelnden Ärzte ergaben die klinischen Untersuchungen keinen Hinweis für eine primäre familiäre Hyperlipidämie oder hormonelle Störungen mit sekundärer Adipositas. Ferner liessen die Laboruntersuchungen keine weiteren manifesten Stoffwechselerkrankungen erkennen. Die Hautabrisse wurden am Tag der stationären Aufnahme zur Durchführung einer 4- wöchigen Nulldiät gewonnen.

Gruppe 5 : 4- wöchige Hay'sche Trennkost

Die Hay'sche Trennkost stellt eine "Außenseiterdiät" dar, deren theoretische Grundlagen den derzeitigen wissenschaftlichen Erkenntnissen nicht entsprechen. Ihr Prinzip beruht auf einer möglichst getrennten Zufuhr von Eiweiß und Kohlenhydraten, die nicht während einer Mahlzeit zusammen verzehrt werden sollen (WALB u. WALB). Bei der praktischen Durchführung dieser Diät kommt es zu einer selektierten Eiweiß- und Kalorienzufuhr, sodaß letztlich eine milde Reduktionsdiät resultiert.

Die Hay'sche Trennkost wurde von der Küche des Krankenhauses für Naturheilweisen, München- Harlaching, Sanatoriumsplatz, zubereitet. Als Versuchspersonen für den 4- wöchigen Test stellten sich die Probanden der Kontrollgruppe zur Verfügung. Da während dieser Zeitspanne drei Probanden absprangen, konnten nur 12 von 15 Personen nachuntersucht werden.

Bei den Probanden war es innerhalb 4 Wochen zu einer mittleren Gewichtsreduktion von 1,6 kg gekommen. Die Laborparameter waren bis Ende der Diät ohne wesentliche

Änderung.

Die Hautabrisse wurden einen Tag vor Beginn der Diät und am 28. Tag der Hay'schen Trennkost abgenommen.

Gruppe 6 : 4- wöchige Nulldiät

Eine sehr katabole Ernährungssituation stellt die Null-diät dar. Die 4- wöchige Nulldiät wurde stationär im Krankenhaus für Naturheilweisen, München - Harlaching, durchgeführt.

Es erfolgte keinerlei Eiweiß-oder Kohlenhydrat-Substitution. Die Patienten erhielten als Flüssigkeitszufuhr Tee oder Suppe, wobei maximal 300 -400 kcal pro Tag zugeführt wurden. Als Versuchspersonen dienten die Patienten der Gruppe 4 (Adipositas-Gruppe). Da 2 Patienten die Nulldiät vorzeitig abbrachen, konnten nach 4 Wochen nur 10 der 12 Patienten nachuntersucht werden.

Die mittlere Gewichtsreduktion während der 4- wöchigen Nulldiät betrug $9,2 \pm 1,5$ kg. Die zwischenzeitlich durchgeführten klinischen Untersuchungen erbrachten keine unerwarteten Befunde.

Die Hautabrisse wurden am Tag der stationären Aufnahme und am 28. Tag der Nulldiät abgenommen.

Gruppe 7 : 4- wöchige parenterale Ernährung

Eine weitere sehr katabole Stoffwechselsituation liegt bei Zustand nach schweren Traumen, Verbrennungen, Sepsis oder multiplen Operationen vor, und wird als "Postaggressionsstoffwechsel" bezeichnet (DITSCHUNEIT) Daher wurden Patienten von Intensivstationen als entsprechende Versuchspersonen für diese Stoffwechselsituation ausgewählt. Bei den meisten dieser Patienten kam es jedoch in der für die Untersuchung erforderliche Zeitspanne von 4 Wochen entweder zum Exitus oder zur Aufnahme von Sondenkost via Magenschlauch oder zur

oralen Ernährung, sodaß nur bei 3 Patienten die Bedingungen einer 4- wöchigen, ausschließlich parenteralen, volumenbilanzierten Infusionstherapie erfüllt waren.

Hinsichtlich des Eiweißstoffwechsels umfaßte die parenterale Ernährung 500-1500 ml/die einer handelsüblichen AS-Lösung, wie z. B. Aminosteril; daneben wurde teilweise Albumin und Y- Globulin verabreicht.

Die Diagnose lautete nach Auskunft der behandelnden Ärzte bei den Patienten : Schädel/Hirntrauma, Langzeitbeatmung und zusätzliche schwere Bauchverletzungen wie Pankreatitis.

Bei den Patienten lag nach 4 Wochen eine mittlere Gewichtsabnahme von 7,3 kg vor. Auf Grund der Schwere des Krankheitsbildes wurde ein Hautabriss nur nach 28 Tagen Intensivstation abgenommen.

B. Chemische Methodik

1. Materialgewinnung

Zur Materialgewinnung wurde die von WOLF 1935 eingeführte und von SZAKALL weiterentwickelte, sogenannte "Stripping- Methode" modifiziert verwandt: auf Metallrähmchen einer genau definierten Größe von 5x 2,5 cm ($12,5 \text{ cm}^2$) wurden 2,5 cm breite Klebestreifen (Tesa-film, Firma Beiersdorf) aufgezogen ohne Berührung der Testfläche. Der überstehende Tesafilm wurde abgeschnitten. Die bezogenen Rähmchen blieben 12 Stunden unbedeckt liegen, um an die Raumtemperatur zu adaptieren und hygroscopische Fehlerquellen beim Wiegen auszuschließen. Anschließend wurden die nummerierten Rähmchen auf die Feinwaage gebracht, mit 0,01 mg Genauigkeit gewogen und abgedeckt verpackt. Im weiteren Versuchsablauf wurde mit Pinzette und OP- Handschuhen gearbeitet, um Verunreinigungen durch direkten Hautkontakt zu vermeiden.

Die Hautabrisse erfolgten an der wenig behaarten, volaren Seite des Unterarms. Mit einem Filzstift wurde das Abrißfeld genau umzeichnet. Die Rähmchen wurden angedrückt und von oben nach unten abgezogen. Der erste Abriß wurde stets verworfen, um zufällige exogene Faktoren möglichst auszuschließen. Die weiteren 10 Hautabrisse erfolgten in derselben Weise, jedoch abwechselnd einmal oben beginnend und einmal unten, um ein gleichmäßiges Abziehen der Haut zu gewährleisten. Auf diese Weise wurde der größte Teil des Stratum corneum in Form von Hautschüppchen auf dem Tesafilm fixiert. Das Stratum granulosum, das sich als glänzende Schicht darstellt, wird mit dieser Anzahl von Abrissen in keinem Fall erreicht (eigene Vorversuche; FRIES). Nach dem Stripping wurde sofort eine nochmalige Wägung der

Rähmchen durchgeführt. Die Gewichts-differenz ergab die jeweilige Keratinmenge, die durch die "Stripping-Methode" gewonnen worden war.

2. Aufbereitung der Elutionslösung

Als Elutionslösung wurde 0,1 n HCl-Lösung verwandt. Von früheren Versuchen her ist bekannt, daß hiermit für alle relevanten AS eine gute Löslichkeit erzielt wird; ferner ist der pH- Wert dieser Lösung für die nachfolgende chromatographische Bestimmung günstig. Die Tesafilmstreifen mit den Hautschüppchen wurden von den Rähmchen gelöst, und je zwei Streifen in ein Reagenzglas mit 2,0 ml 0,1 n HCl gebracht. Mit Hilfe eines Rotors wurden die Reagenzgläser 15 Minuten lang gedreht; hierdurch wird der größte Teil der Keratinschuppen abgelöst, und die wasserlöslichen Bestandteile gehen in Lösung. In gleicher Weise wurden die übrigen Abrisse eines Probanden in derselben Elutionslösung behandelt. Da Verluste der Lösung durch die Elution auftreten, wurde anschließend die Eluatmenge mit einer Meßgenauigkeit im μ l-Bereich nachgemessen; im Durchschnitt hatte sich das ursprüngliche Volumen von 2,0 ml auf 1,7 ml reduziert. Neben dieser exakten Volumenbestimmung wurden ferner 20 μ l einer 2,5 mmol NOR-Lösung zugesetzt. Die Messung dieser AS diente als zusätzlicher interner Probenstandard. Bis zur Weiterverarbeitung im Aminosäurenanalysator wurden die Proben in Eppendorf-Gefäßen tiefgefroren aufbewahrt.

3. Chemische Analysen einzelner Stoffe

Urocaninsäurebestimmung (UCS)

Die Urocaninsäure kann durch ihre UV-Absorption bei 268 nm photometrisch bestimmt werden.

Der molare Extinktionskoeffizient der UCS in 0,1n HCl wurde für die vorliegenden Versuchsbedingungen in mehreren Versuchen mit $E = 3 \cdot 10^{-4}$ ermittelt. Dies stimmt mit den Befunden früherer Untersuchungen überein (PRATZEL; MÜLLER).

Harnstoff

Die Harnstoffbestimmung wurde mit einer Biochemica-Testkombination der Firma Boehringer durchgeführt: enzymatischer Farbtest Nr. 124770.

Das Testprinzip besteht darin, daß der Harnstoff in einer durch Urease katalysierten Reaktion unter Bildung von Ammoniumkarbonat gespalten wird. Letztere reagiert weiter mit Phenol und Hypochlorit unter Bildung eines blauen Farbstoffs, der bei 550 nm photometrisch gemessen wird. Zusätzlich wurde der primär vorhandene Ammoniakanteil erfaßt. Bei den auswertbaren Meßergebnissen lagen die Harnstoffwerte in einer Größenordnung von 0,03-0,04 mmol/l und somit im Grenzbereich der angewandten Meßmethode. Daher wurden die Werte nicht in den Ergebnisteil aufgenommen.

4. Aminosäurechromatographie

Prinzip der Aminosäurechromatographie

Die freien AS der Haut wurden säulenchromatographisch getrennt. Es kamen sowohl das 2-Säulen-Lithium-Verfahren als auch ein 1-Säulenverfahren zur Anwendung um durch das 1-Säulenverfahren die Trennzeit zu verkürzen (Analysengeräte TSM1 und NC2PM der Firma "Technicon"). Zur Trennung der AS wurde ein Kationenaustauscher (Polystyrolsulfonat) verwendet. Das Harz wurde schichtweise in die Säule eingebracht, und das AS-Gemisch mit Hilfe einer Hochdruckpumpe auf die Säule aufgegeben. Es durchwandert mit verschiedenen Pufferlösungen, die sich in ihrem pH-Wert unterscheiden, schichtweise die Säule. Wegen der unterschiedlichen Dissoziationskonstanten der einzelnen AS kommt es entlang des Kationenaustauschers zur Auftrennung der AS. Nach Durchlauf des AS-Gemisches wurde das Harz mit Lauge, z.B. LiOH, regeneriert.

Um eine optimale Trennung der AS zu erreichen, sind verschiedene Faktoren von großer Bedeutung, z.B. die Ionenkonzentrationen der organischen Lösungen, die unterschiedlichen pH-Werte der Pufferlösungen, die Temperaturen der Trennsäulen und die Durchflußgeschwindigkeit.

Während des mehrstündigen Trennungsvorgangs wurden die AS-Analysatoren automatisch gesteuert. Die Dauer der gesamten Trennung, der Regeneration der Harze und der Equilibrierung des Systems betrug beim TSM 1 2-Säulenverfahren ca. 6,5 Stunden.

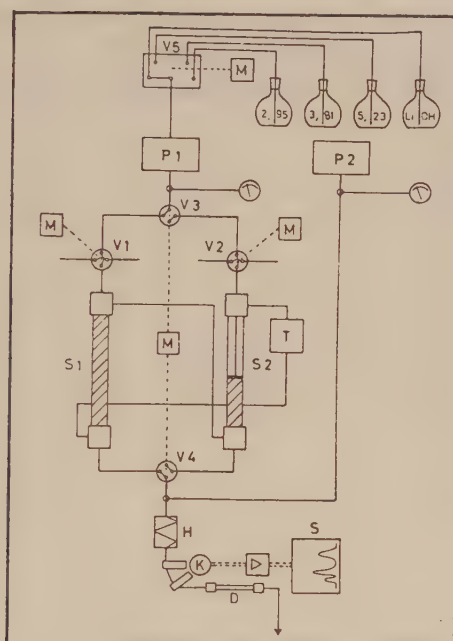
Nach der Auftrennung der AS wurde das Eluat mit Ninhydrin versetzt und in ein kochendes Wasserbad mit einer konstanten Temperatur von 100⁰ C gepumpt. Hierbei reagiert das Ninhydrin mit den AS unter Bildung eines Farbkomplexes. Anschließend wurde dieser blau-violette

Farbstoff bei einem Absorptionsmaximum von 570 nm photometrisch gemessen, auf einen Schreiber übertragen und automatisch mit einem angeschlossenen Integrator registriert.

Die Meßwerte wurden im Abstand von 10 s auf Lochstreifen gespeichert; die Auswertung dieser Daten erfolgte dann automatisch auf einem Großrechner. Hierbei wurde das CHROMA-Programm von Prof. Pratzel verwandt, das eine Peakfunktion an die Kurve anpaßt und mit einem maximalen Fehler von 0,5% parametrisch integriert.

Die exakte Zuordnung und Bestimmung der einzelnen AS erfolgte durch Kontrolle des jeweiligen Probenchromatogramms und Vergleich mit den Testgemischen.

Abb.3.1:Schema des 2-Säulen AS-Analysators (TSM 1)



M -Motor; V1,V2 -Dosierventil; V3,V4 -Säulenwahlventil; V5 -Pufferwahlventil; H -Heizbad; K -Kolorimeter; S.-Schreiber; D -Durchflußpipette; S1 -Säule für saure u. neutrale AS; S2 -Säule für basische AS; T -Temperierbad; P1 -Pufferpumpe; P2 -Ninhydrinpumpe.

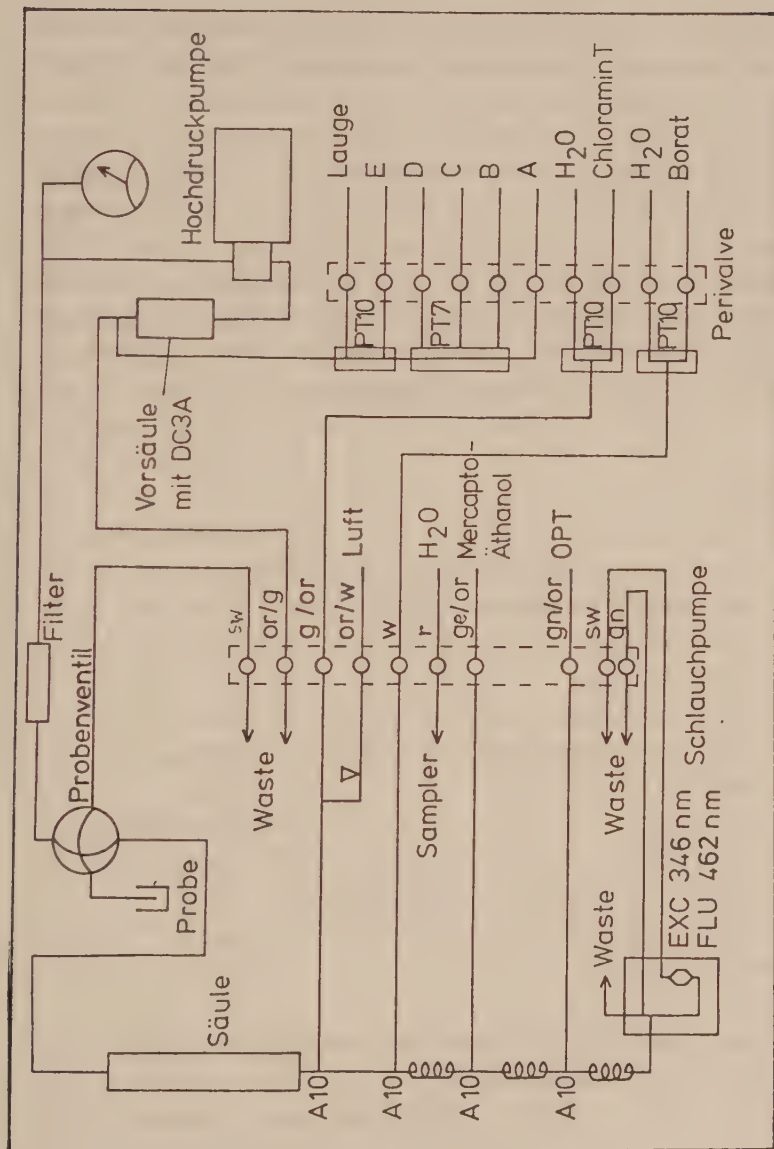
Beim NC2PM -1-Säulenverfahren betrug die Dauer der Trennung, Regeneration der Harze und der Equilibrierung des Systems etwa 4 Stunden.

Hierbei kamen Boratpuffer mit unterschiedlichen pH-Werten zur Anwendung. Die Konzentration der AS wurde mittels OPT und Mercaptoäthanol fluorometrisch be-

stimmt. Mit OPT bilden AS Schiff'sche Basen, die bei 455 nm Wellenlänge fluoreszierend angeregt werden. Mercaptoäthanol wird bei der Bildung der Fluoreszenzprodukte als Reduktionsmittel eingesetzt.

Die Steuerung des 1-Säulenverfahrens übernahm ein Microprozessor.

Abb.3.2:Fließdiagramm des OPT-Verfahrens



Technische Daten des Aminosäurenanalysators

Automatische Probenaufgabe

Die Proben wurden automatisch mit Hilfe einer Spritze in Teflon-Kapillarschläuche angesogen. Für das 2-Säulen-Li-Verfahren benötigte man das doppelte Probenvolumen, weil eine Schleife für die saure/ neutrale Säule und eine weitere Schleife für die basische Säule gefüllt werden mußten. Hierbei wurden je 200 µl Probe aufgegeben. Beim 1-Säulenverfahren war die aufgebrachte Probenmenge (etwa 20 -40 µl) von der erwarteten Konzentration abhängig. Diese wurde durch einen Vorversuch abgeschätzt. Anschließend wurde mit den jeweiligen Puffern der Probenauftrag nachgespült.

Säuleneinheit

Bei den Versuchen wurden sowohl ein 2-Säulen- wie auch ein 1-Säulenverfahren verwandt.

2-Säulenverfahren:

Säule:	Maße (mm)	T (C)	Harz
saure/neutrale Aminosäure	450 x 5	42 ⁰ C	chromebeads C3 (10,5 + 15 µ)
basische Aminosäure	100 x 5	50 ⁰ C	chromebeads C3 (7,5 + 10,5 µ)

1-Säulen- verfahren	130 x 5	37 ⁰ C	Durram DC 6 A
------------------------	---------	-------------------	---------------

Die jeweiligen Säulen waren von einem Wassermantel umgeben, der die Temperaturen für eine optimale Trennung konstant hielt. Beim 2-Säulenverfahren änderte sich

nach der Trennung der sauren/neutralen AS die Temperatur für den basischen Teil durch Umschalten auf ein zweites Kontaktthermometer.

Auch beim 1-Säulenverfahren wurde die Temperatur zwischen dem sauren und basischen Teil der Trennung durch eine kontinuierliche Steuerung durch den Mikroprozessor geändert.

Reagenzien

Die Reagenzien befanden sich in großen Behältern, teils aus Glas, teils aus Kunststoff. Von diesen Vorratsbehältern gingen Schlauchleitungen über ein Mehrfachschlauchventil zur Pumpeinheit.

Folgende Reagenzien wurden verwendet:

2-Säulenverfahren:

1) Li-Puffer (0,2 n)

Puffer A	pH 1,51	Puffer D	pH 4,15
Puffer B	pH 2,65	Puffer E	pH 3,65
Puffer C	pH 3,45	Puffer F	pH 5,50

2) Li-OH (zur Regeneration des Harzes) 0,75 n:

17,96 g LiOH (98%) ad 1000 ml H₂O

3) Ninhydrin-Lösung:

20,0 g N; 625 g Hydrinantin; 250 ml
Li-Acetatpuffer; Ascorbinsäure; MCS

1-Säulenverfahren:

1) Borat-Puffer (0,6 M)

123,6 g Borsäure/ 4l H₂O ;Zugabe von
KOH bis ca. pH 3,01, auffüllen auf 5 l

Puffer A pH 3,01

Puffer C pH 3,30

Puffer B pH 3,45

Puffer D pH 4,50

2) 2-Mercaptoäthanol:

0,5 ml/100 ml Äthanol

3) OPT-Reagens:

1 g/100 ml 50% Äthanol

Testgemische

AS-Standards der Fa. PIERCE mit einer Konzentration von
2,5 µmol/ml und folgenden AS:

ASP	ILE
THR	LEU
SER	TYR
GLU	PHE
GLY	LYS
ALA	HIS
VAL	ARG

mit Zusatz von ASN, CIT, ORN und NOR.

Pumpeinheit

Die Pumpeinheit beim 2-Säulenverfahren bestand aus 2
Hochdruckpumpen; je eine Pumpe brachte die entspre-

chenden Puffer auf die saure Säule bzw. auf die basische Säule, ebenso die Lauge zur Regeneration des Harzes. Es handelte sich hierbei um Kolbenpumpen, die mit einem Elektromotor betrieben wurden. Der Maximaldruck in der sauren Pumpe betrug 50 atü, der in der basischen Pumpe 30 atü.

Beim 1-Säulen-OPT-Verfahren handelte es sich ebenfalls um eine kolbenbetriebene Hochdruckpumpe gleicher Bauart.

Temperaturregelung

Zur Ninhydrinreaktion war ein Wasserbad mit einer konstanten Temperatur von 100⁰ C erforderlich. In diesem Heizbad befand sich eine gläserne Reaktionsspirale, in der die Farbreaktion ablief.

Zur Temperierung der basischen und sauren Säule dienten 2 Kontaktthermometer, die automatisch, gesteuert durch den Lochstreifen bzw. den Mikroprozessor, die erforderlichen Temperaturen erbrachten.

Beim OPT-Verfahren wurde das Eluat nach der Reagenzzugabe in einer kleinen Glasspirale auf die gewünschte Temperatur von 37⁰ C gebracht.

Meßeinheit

Die Farbreaktion des Ninhydrinverfahrens wurde mit Hilfe eines Colorimeters, Typ Auto Analyzer II der Firma Technicon, gemessen und zwar bei einer Wellenlänge von 570 nm.

Die OPT-Reaktionen wurden mit Hilfe eines Fluorometers, Typ Auto Analyzer MOD-2A der Firma Technicon, gemessen.

Registriereinheit

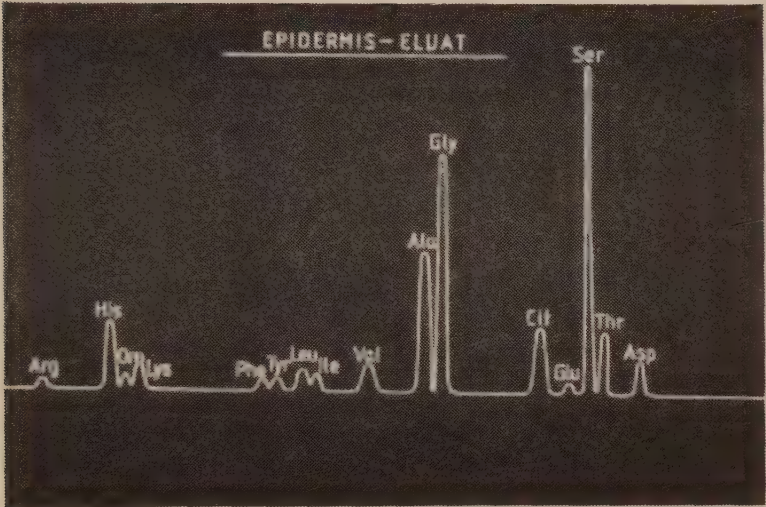
Die im Colorimeter gemessenen unterschiedlichen Farbkonzentrationen der einzelnen AS wurden kontinuierlich auf einen Philips-Mehrkanalschreiber übertragen, der mit einem Integrator, Typ Perkin Elmer GC-Datensystem SIPI, verbunden war. Desgleichen wurden die im Fluorometer gemessenen AS-Konzentrationen kontinuierlich auf den Schreiber übertragen.

Da jede geometrische Auswertung der Extinktions-Peaks mit erheblichen Meßfehlern behaftet ist, wurden die Meßdaten auf Lochstreifen übertragen.

Die Testgemische, die vor der Messung der eigentlichen Proben aufgegeben wurden, enthielten die nachfolgend bestimmten AS jeweils in der Konzentration von 2,5 nmol/ μ l. Sie wurden zur Kalibrierung der Meßsysteme und Überprüfung der Trennqualität der Chromatogramme verwandt. Meistens waren vielfache Nachjustierungen der Puffer bzw. des Lochstreifens- und Mikroprozessor-Programms nötig, bis die erwünschte, und für die Versuchsanordnung erforderliche Trennschärfe erreicht war. Darüber hinaus war es durch die Testgemische möglich, die unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen AS zum jeweiligen Nachweisverfahren mitzuerfassen und bei der endgültigen Auswertung mitzuberücksichtigen.

Ferner wurden während der Meßreihe nach jeder 6.-8. Hautprobe ein genormtes Testgemisch zur Kontrolle analysiert. Darüber hinaus wurde dem Testgemisch als zusätzlicher interner Standard NOR zugesetzt, um allgemeine Schwankungen der Reaktionsempfindlichkeit und die Verdünnung mitzuerfassen.

Abb.3.3: Schema eines typischen Chromatogramms eines Hauteluats



Im einzelnen wurden folgende 18 AS im Chromatogramm erfaßt:

Asparaginsäure	ASP	Isoleucin	ILE
Threonin	THR	Leucin	LEU
Serin	SER	Tyrosin	TYR
Asparagin	ASN	Phenylalanin	PHE
Glutaminsäure	GLU	Ornithin	ORN
Glycin	GLY	Lysin	LYS
Alanin	ALA	Histidin	HIS
Citrullin	CIT	Arginin	ARG
Valin	VAL	Norleucin	NOR
		(als interner Standard)	

Ferner wurde zusätzlich NH₃ mitbestimmt.

5. Auswertung

Es wurden nur Chromatogramme ausgewertet, die sowohl im sauren wie im basischen Teil eine einwandfreie Trennung und Identifikation jeder einzelnen AS aufwiesen. Die automatisch errechneten Daten wurden bei jeder einzelnen AS überprüft. Werte, die sich auf nicht identifizierbare Peaks oder auf kleine artifizielle Peaks bezogen, wie etwa Null-Linien-Artefakte, wurden nicht mitberücksichtigt.

Aus den Werten der 17 Haut-AS konnten, unter Berücksichtigung der Verdünnungsfaktoren und des internen Standards, die Absolutmengen jeder Abrißprobe errechnet werden (nmol AS), bezogen auf mg Keratin .

Diese erste Auswertung (nmol AS/mg Keratin) wurde als "Absolutwert" bezeichnet.

Daneben wurden die Konzentrationen der einzelnen AS summiert. Diese Gesamtsumme wurde = 100 (Mol) gesetzt, und die relative Konzentration der einzelnen AS bestimmt (angegeben in Mol AS /100 Mol Gesamt AS.) Dies wird als "Relativverteilung" (Mol%) bezeichnet.

Die Werte werden für die einzelnen freien AS, UCS und NH_3 angegeben; UCS und NH_3 waren aber nicht an der Gesamtsumme der freien AS beteiligt.

Eine weitere Auswertung der Daten erfolgte, indem die Konzentration der AS GLY als Bezugsgröße =100 gesetzt wurde. Vorversuche hatten eine hohe Konstanz und Unabhängigkeit dieser AS von interindividuellen Einflüssen ergeben. Die einzelnen AS und UCS mit NH_3 wurden dann in Relation zu GLY ausgedrückt.

An statistischen Methoden wurden die F-Verteilung, der Student-t-Test und der U-Test nach Wilcoxon und Mann verwandt. Ferner wurde bei den Diätformen der Vorzeichentest nach Dixon und Moad miteinbezogen (CIBA-GEIGY).

Es erfolgte bei den statistischen Untersuchungen zur Vereinfachung immer nur die Bewertung zweier Gruppen zueinander. Auf die Bildung größerer Kollektive wurde verzichtet.

IV. ERGEBNISSE

Um eine bessere Übersicht zu ermöglichen werden die Befunde von je einem chemischen Parameter, nach Versuchsgruppen geordnet, dargestellt. Die Versuchsgruppen sind in Tab. 3.1 aufgelistet. Es werden die Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben; auf die Angabe der Varianz wurde verzichtet. Es werden erst die Summenwerte (Keratin, Gesamtkonzentration der AS), dann die Verteilung der freien AS in Absolut- und Relativwerten dargestellt.

A. Summenwerte

1. Keratingehalt

Als Keratingehalt einer Probe wurde das gesamte, durch die "Stripping-Methode" gewonnene organische Material definiert. Die Meßergebnisse des Keratingehalt (mg Keratin) sind aus Tab. 4.1 ersichtlich. Bei den Probanden der Kontrollgruppe wurde von $12,5 \text{ cm}^2$ Hautoberfläche im Mittel 7,07 mg organisches Material pro Probe gewonnen. Ein ähnlicher Keratingehalt von $7,52 \pm 1,25 \text{ mg}$ fand sich bei der Adipositas-Gruppe. Dagegen ergaben sich signifikant niedrigere Keratinmengen bei den Diabetikern mit 4,17 mg Keratin und bei den Urämikern mit 4,67 mg Keratin im Mittel (jeweils $p < 0,01$).

Bei den Versuchsgruppen mit Stoffwechseländerungen wurden die zweiten Abrisse nach 4 Wochen gewonnen.

Bei der Gruppe der Nulldiät war der zweite Meßwert mit 7,43 mg Keratin zum ersten mit 7,52 mg Keratin bei einer mittleren Streuung von 1,5 mg nahezu identisch.

Bei der Gruppe mit Hay'scher Trennkost lag der zweite Wert deutlich niedriger, da 7 der 12 Probanden er-

erhöhte Keratindengen hatten. Die Probedifferenz von 1,2 mg ist statistisch noch nicht signifikant.

Bei den Probanden mit parenteraler Ernährung fand sich eine fast auf die Hälfte gegenüber der Kontrollgruppe verringerte Menge organischer Materials (Probe, nämlich 3,6 zu 7,17 mg Keratin ($p < 0,01$ trotz der kleinen Fallzahl)).

2. Gesamtgehalt an freien AS

Als Bezugsgröße für die ermittelten freien AS der Hornschicht diente das organische Ausgangsmaterial, ausgedrückt in 'mg Keratin'. Außerdem wurde für Vergleichszwecke die Konzentration der freien AS bezogen auf die Fläche ausgewertet. Die Werte sind aufgeführt nach Gruppen in Tab. 4.1 aufgeführt.

Für die Kontrollgruppe ergab sich ein Mittelwert von 636,7 nmol freie AS/mg Keratin; der statistische Mittelwertfehler liegt bei $\sigma_m \pm 83$ nmol; die Standardabweichung beträgt ± 196 nmol; mit Werten von 154 bis 257 nmol liegt sie bei den Versuchsgruppen in einer Größenordnung von 25-30% der Mittelwerte. Der mittlere Gesamtgehalt der freien AS betrug 360 nmol/cm^2 Hautoberfläche.

Bei der Uramie-Gruppe differierte der Gesamtgehalt an AS mit 702,5 nmol AS/mg Keratin nicht wesentlich zur Kontrollgruppe.

Die Gruppe mit Diabetes mellitus wies mit 984,17 nmol den höchsten AS-Gehalt auf, bezogen auf mg Keratin. Allerdings differierte der AS-Gehalt dieser Gruppe nicht von der Kontrollgruppe, wenn die AS pro Fläche berechnet wurden: 327,3 gegenüber $360,1 \text{ nmol/cm}^2$.

Auch die Adipositas-Gruppe erbrachte einen signifikant erhöhten Wert; der Gesamtgehalt an freien AS betrug hier 850,67 nmol AS gegenüber 636,7 nmol bei der

Kontrollgruppe ($p < 0,025$).

Im Versuchsteil Stoffwechseländerung ergaben sich bei den Probanden mit Hay'scher Trennkost fast identische Meßwerte zu den Ausgangswerten (siehe Tab.4.1).

Die Nulldiät-Gruppe hingegen wies nach Durchführung der 4-wöchigen Diät einen niedrigeren Gesamtgehalt an freien AS auf; er nahm von 846 auf 688,8 nmol AS/ mg Keratin ab; letzterer Wert differiert nicht von der der Kontrollgruppe. Ebenso lag der Gesamtgehalt der AS/cm² Hautoberfläche mit 409,6 bei Nulldiätende nicht mehr signifikant gegenüber der Kontrollgruppe, während der Ausgangswert 509,1 nmol/cm² betragen hatte.

Bei der Gruppe parenterale Ernährung war der Gesamtgehalt der freien AS, bezogen auf mg Keratin, mit 497,5 nmol um ca. ein Viertel erniedrigt. Eine noch stärkere Reduzierung zeigt sich beim anderen Vergleichswert mit 143,7 nmol/cm² (siehe Tab. 4.1).

Tab. 4.1 :Keratinmenge, Gesamtkonzentration der freien AS für alle Versuchsgruppen			
Gruppe	Keratinmenge	Gesamtgehalt freie AS (nmolAS/mg Keratin)	Gesamtgehalt AS/cm ² Haut- oberfläche

Kontroll- gruppe	7,07± 1,78	636,7 ± 196,2	360,1
Diabetes mellitus	** 4,17± 1,42	** 984,17± 257,8	327,3
Urämie	** 4,67± 1,23	702,5 ± 154,9	262,4
Adipositas	7,52± 1,25	* 850,67± 199,0	511,7
Hay'sche Trennkost vor Diät	7,07± 1,78	642,8 ±191,2	363,6
nach	5,76± 1,73	670,67±229,9	307,4

Nulldiät vor Diät	7,52± 1,25	* 846,3 ±189,2	509,1
nach	7,43± 1,68	* 688,8 ±232,5	409,6

Parenterale Ernährung	** 3,61± 0,64	** 497,5 ±167,2	143,7

B. Verteilung der freien AS inclusive NH_3 und UCS

Bei der Einzeldarstellung der AS wurden nur die 17 AS aufgeführt, die stets eindeutig identifizierbar waren, und mit beiden angewandten Chromatographieverfahren erfaßt werden konnten.

1. Verteilung der freien AS, bezogen auf mg Keratin (Absolutwerte)

Die Mittelwerte der einzelnen AS sind, nach Gruppen aufgeschlüsselt, in Tab. 4.2 und 4.3 dargestellt. Als Bezugssystem fungierte Keratin (mg^{-1} Keratin). Die Standardabweichung ist bei dieser Auswertung sehr hoch; sie liegt selbst bei der Kontrollgruppe im Bereich von 30 bis 45% des Mittelwertes bei den sauren und neutralen AS, für SER z.B. bei 33%.

Kontrollgruppe (Tab. 4.2)

Es fand sich das bekannte, charakteristische AS-Muster des Stratum corneums. Die AS THR und SER stellen ein Drittel des Gesamtgehaltes von 636,7 nmol/ml an freien AS, wobei auf SER 181,9 nmol und auf THR 43,58 nmol entfallen.

Rechnet man noch GLY (100,67) und ALA (62,91) hinzu, entfallen 60% des AS-Pools auf diese 4 AS.

CIT stellt eine für das menschliche Stratum corneum charakteristische AS dar, weil es nur hier in höherer Konzentration zu finden ist; Mittelwert: 44,82 nmol/mg Keratin.

Die AS VAL, ILE, und LEU haben einen sehr ähnlichen chemischen Aufbau, was die chromatographische Trennung erschweren kann. Interessanterweise lag bei jeder Versuchsperson der jeweilige ILE-Wert geringfügig höher

als der LEU-Wert, obwohl die Mittelwerte nur eine geringe Differenz aufwiesen (9,9 nmol:9,1 nmol/mg Keratin).

Der NH_3 - Peak errechnete sich mit 55,6 nmol/mg Keratin bei der Kontrollgruppe.

Den letzten Teil des Chromatogramms bilden die 4 basischen AS ORN, LYS, HIS und ARG, die zusammen rund 20% der freien AS ausmachen. Der Haupt-Peak mit 60,58 nmol/mg Keratin wurde als HIS identifiziert, während die übrigen AS zwischen 10 und 15 nmol/mg Keratin aufwiesen (Tab. 4.2). Auffällig war die hohe Varianz dieser Analysenwerte.

Diabetes-mellitus-Gruppe (Tab. 4.2)

Die Mittelwerte der einzelnen AS sind in Tab. 4.2 dargestellt.

Bei der Auswertung " pro mg Keratin" ist bei der Diabetes-Gruppe die Gesamtmenge an freien AS gegenüber der Kontrollgruppe ca. 1,5-fach erhöht. Dies ist durch den geringen Keratingehalt bedingt. Dementsprechend erreichen die Mittelwerte der meisten gemessenen AS bei dieser Auswertung das Signifikanzniveau. Es zeigt sich aber bei der Relativverteilung eine zur Kontrollgruppe identische Verteilung (Tab. 4.2; 4.4).

Besonders die Absolutwerte von SER, THR, GLY und ALA differieren; CIT ist mit 68,4 nmol/mg Keratin gegenüber 44,52 und GLU mit 17,5 nmol zu 12,2 nmol/mg Keratin der Kontrollgruppe noch deutlich erhöht ($0,01 < p < 0,05$). Desgleichen erreichen die AS VAL, ILE, LEU, TYR und PHE, die zusammen 9% des gesamten AS-Pools stellen, das statistische Signifikanzniveau. Ferner sind der NH_3 -Gehalt mit 98,2 nmol gegenüber 55,6 nmol bei den gesunden Probanden und UCS deutlich erhöht.

Was die basischen AS betrifft, so wichen nur LYS und ARG in ihren "Absolutwerten" signifikant von der Kontrollgruppe ab (Siehe Tab. 4.2).

Urämie-Gruppe (Tab. 4.2)

Bei annähernd identischer Gesamtkonzentration findet sich im ersten Teil des Chromatogramms von ASP bis VAL keine Differenz zwischen der Urämie- und der Kontrollgruppe (Tab. 4.2). Auffallend ist die gute Kongruenz der Meßwerte, z.B. GLU 12,23 bzw. 12,73 nmol; ALA 62,9 bzw. 62,3nmol/mg Keratin.

Einen deutlichen Unterschied zeigen die AS ILE und LEU mit 12,11 bzw. 11,85 nmol/mg Keratin bei der Urämie-Gruppe. Nur bei dieser Gruppe war bei einzelnen Probanden der LEU-Wert höher als der ILE-Wert; von dem AS-Paar TYR und PHE weist nur PHE mit 10,9 nmol mg Keratin eine signifikante Erhöhung auf. Daher reduziert sich der Quotient TYR:PHE von 2,1:1 auf 1,2:1 ($p < 0,01$).

Erwartungsgemäß ist der NH_3 -Gehalt bei der Urämie-Gruppe stark erhöht.

Bei den basischen AS findet sich ein von der Kontrollgruppe abweichendes AS-Muster: ORN weist mit 7,65 nmol/mg Keratin gegenüber der Kontrollgruppe eine ca 50%ige Verminderung auf. Andererseits liegt bei ARG der Meßwert um fast das 3-fache höher, nämlich bei 32,5 nmol/mg Keratin. HIS dagegen hat abgenommen, das Folgeprodukt UCS dafür stark zugenommen mit 29,4 nmol (gegenüber 19,9 der Kontrollgruppe).

Adipositas-Gruppe (Tab. 4.2)

Bei dieser Gruppe ist die Gesamtkonzentration an freien AS signifikant erhöht (Tab. 4.1), was letztlich die Summe einer Vielzahl erhöhter Einzelwerte darstellt.

Wie bei der Diabetes-Gruppe sind THR, SER, GLY und ALA signifikant vermehrt; insbesondere der GLY-Wert liegt fast um das 1,5-fache höher ($0,01 < p < 0,05$). Der ASN-Wert ist erhöht auf 9,9 nmol gegenüber 6,74 nmol/mg Keratin der Kontrollgruppe.

Keine signifikante Differenz bei dieser Auswertung weisen die verzweigtkettigen AS VAL, ILE, LEU und CIT auf.

Bei der Adipositas-Gruppe weicht der letzte Teil des Chromatogramms sowohl von der Kontrollgruppe wie von der Urämie-Gruppe völlig ab: der NH_3 -Gehalt ist erniedrigt; desgleichen hat ARG mit 10,63 nmol im Mittel abgenommen. Umgekehrt ist ORN mit 51,36 nmol/mg Keratin um mehr als das 3-fache gegenüber der Kontrollgruppe (15,1 nmol) erhöht ($p < 0,01$). Auch der LYS-Wert fällt mit 17,9 nmol gegenüber 10,2 nmol bei dieser Auswertung noch in den Signifikanzbereich. Bei dem Paar HIS/UCS ist UCS mit 37,54 nmol fast doppelt so hoch wie bei der Kontrollgruppe (19,9 nmol) ($p < 0,01$).

Somit zeigt auch diese Gruppe wie die anderen Stoffwechselstörungen ein charakteristisches Muster der freien AS im Stratum corneum.

Hay'sche Trennkost (Tab. 4.3)

Wie im methodischen Teil dargelegt, stellte sich ein Teil der Kontrollgruppe für diese Diät zur Verfügung. Die Ausgangswerte werden A-Werte genannt, die nach 4-wöchiger Diät bestimmten Werte B-Werte.

Die A-Werte der Gruppe unterscheiden sich von der Kontrollgruppe um max. 3%, wobei der statistische Mittelwertfehler für die meisten AS mit rund 10% ihres Meßwertes zu veranschlagen ist.

Nach der 4-wöchigen Diät sind die Mittelwerte von CIT, VAL, ILE und LEU um rund 10% erhöht, ARG von 11,21 auf 15,51 nmol/mg Keratin, HIS von 58,4 auf 65,3 nmol; dies ist auf Grund der Streuung nicht signifikant und gilt auch für die übrigen AS.

Somit ließ sich bei der Hay'schen Trennkost nach 4-wöchiger Dauer kein Einfluß auf die Konzentration der freien AS der Haut feststellen.

Nulldiät (Tab. 4.3)

Die 4-wöchige Nulldiät wurde mit einem Teil der Adipositas-Patienten durchgeführt. Die A-Werte bei Diätbeginn entsprechen daher den Werten der Adipositas-Gruppe (siehe oben; Tab. 4.2). Die einzelnen AS sind in Tab. 4.3 aufgeführt; die wichtigsten Befunde wurden bei der Adipositas-Gruppe dargestellt.

Die Verteilung der freien AS nach 4-wöchiger Nulldiät (B-Wert) ist ebenfalls in Tab. 4.3 aufgeführt. Es wird zunächst auf die Mittelwert-Änderungen gegenüber dem A-Wert, dann gegenüber der Kontrollgruppe eingegangen. Insgesamt findet während der 4-wöchigen Nulldiät eine signifikante Reduktion der Gesamt-AS auf 689 nmol/mg Keratin statt ($p < 0,05$) (Tab. 4.1).

Bei allen 8 AS zu Chromatogrammbeginn - ASP bis CIT - ist eine Verkleinerung der Mittelwerte feststellbar. Hiervon ist nur die Abnahme von GLY (148 auf 108,8 nmol), ALA (87,25 auf 63,1 nmol) und von CIT (53,86 auf 34,72 nmol/mg Keratin) statistisch signifikant ($p < 0,025$). Bei letztgenannter AS ist die Abnahme so groß, daß der B-Wert unter dem Kontrollgruppen-Wert liegt, während die übrigen 7 AS der Kontrollgruppe gleichen. Desgleichen weisen die 4 basischen AS eine deutliche Abnahme ihrer Mittelwerte auf; durch die hohe Streuung ließ sich keine Signifikanz bei den "Absolutwerten" belegen.

Die statistische Signifikanzgrenze wird bei der AS THR wieder erreicht, da sich nach 4-wöchiger Nulldiät die Konzentration von 13,58 auf 9,5 nmol/mg Keratin erniedrigt hat ($p < 0,025$), ebenfalls bei UCS (Abnahme von 37,54 auf 29,6 nmol).

Die verzweigtkettigen AS VAL, ILE und LEU haben in ihrer Konzentration nicht abgenommen. Die Veränderungen der übrigen AS sind statistisch nicht relevant.

Der Vergleich der Konzentration der freien AS nach Nulldiät (B-Werte) mit der Kontrollgruppe ergibt für die meisten AS gleiche Werte. Erhöht sind UCS mit 29,6 nmol/mg Keratin, ORN mit 44,1 nmol gegenüber 15,18 nmol der Kontrollgruppe und VAL mit 22,63 nmol (gegenüber 17,7 nmol). Erniedrigt waren NH_3 , ARG mit 8,54 nmol gegenüber 11,79 nmol und CIT mit 34,7 nmol/mg Keratin. abgesunken ist.

Parenterale Ernährung

Die Gesamtkonzentration und -Menge an freien AS ist bei dieser Gruppe signifikant erniedrigt (siehe Tab. 4.1). Aus den in Tab. 4.3 gezeigten Mittelwerten der

einzelnen AS ist ersichtlich, daß vor allem GLY und CIT abgenommen haben: GLY auf 40,9 nmol/mg Keratin gegenüber 100,67 nmol bei der Kontrollgruppe, CIT auf 25,95 zu 44,82 nmol/mg Keratin. Die Abnahme von ALA (38,9 gegenüber 62,91 nmol) und von GLU liegt wegen der hohen Streuung an der Signifikanzgrenze.

Die übrigen sauren und neutralen AS weichen, bezogen auf mg Keratin, nicht signifikant von der Kontrollgruppe ab. Von den basischen AS weisen zwei höhere Werte als die Kontrollgruppe auf: ARG ist auf 15,4 nmol (gegenüber 11,8 nmol) erhöht, LYS auf fast das Doppelte mit 20,58 gegenüber 10,26 nmol/mg Keratin ($p < 0,05$).

Betrachtet man die Stoffwechseländerungen zusammen, so führt ein mehrwöchiger kataboler Stoffwechsel zu signifikanten Verschiebungen des AS-Musters und deutlichen Konzentrationsverringerungen.

2. Verteilung der freien AS, bezogen auf Mol% (Relativdarstellung)

Bei den vorherigen Ergebnissen (Absolutwerte, nmol/mg Keratin) handelte es sich um Konzentrationsangaben, bezogen auf mg Keratin. Die nachfolgende Auswertung bezieht den Gehalt der einzelnen AS auf den Gesamt-AS-Pool (mol AS/100 mol AS). Damit werden v. a. Verteilungsänderungen der Konzentrationen innerhalb des AS-Musters erfaßt. In dieser Relativdarstellung werden die Meßergebnisse der freien AS der Haut wohl am häufigsten dargestellt, da sie zum einen die Streubreite der Meßwerte verkleinert, zum anderen vergleichende Aussagen zu anderen Messungen ermöglicht (SCHWARZ; VLACHOS; HOFMANN; PRATZEL; KLASCHKA).

Kontrollgruppe (Tab. 4.4)

Die Relativverteilung der einzelnen AS in der Kontrollgruppe ist inkl. Standardabweichung, UCS und NH_3 in Tab. 4.4 dargestellt. Im wesentlichen stimmen die Werte sehr gut mit den Kollektiven anderer Autoren überein, wie Tab. 5.3 zeigt (SCHWARZ; HOFMANN; PRATZEL). Der prozentuale Anteil von UCS ist in unserem Kollektiv mit 3,1 Mol% relativ niedrig. Die drei AS ASP, THR und SER stellen etwa 40% des gesamten AS-Pools, mit SER-Werten von 28,5 Mol% im Mittel. Die beiden AS THR und SER verhalten sich etwa wie 1:4; die Korrelation der Werte beträgt $r = 0,88$. Von den nächsten AS bilden GLY mit 15,7 Mol%, ALA mit 9,9 Mol% und CIT mit 6,9 Mol% ein weiteres Drittel der Gesamtkonzentration. Die Werte der AS ILE, LEU, TYR und PHE sind aus Tab. 4.4 ersichtlich und liegen zwischen 1,00 und 1,74 Mol% im Mittel. Von den basischen AS ist

HIS mit 9,5 Mol% anteilmäßig am größten. Die übrigen basischen AS ergeben zusammen rund 6 Mol%, sodaß der Gesamtanteil der basischen AS am AS-Pool mit rund 15 Mol% zu veranschlagen ist.

Diabetes-mellitus-Gruppe (Tab. 4.4)

Während bei den Konzentrationsangaben, bezogen auf mg Keratin, erhebliche Unterschiede zwischen der Diabetes-Gruppe und der Kontrollgruppe bestanden, ist dies bei der prozentualen Verteilung nicht der Fall. Die Werte stimmen weitgehend überein: z.B. weisen ASP (4,90 zu 4,97 Mol%), GLU (1,91 zu 1,91 Mol%), CIT (6,89 zu 6,99 Mol%) und TYR (1,78 zu 1,74 Mol%) nahezu identische Werte auf. Die Werte der übrigen AS sind aus der Tab. 4.4 ersichtlich. Nur die unterschiedlichen Verteilungen von ARG (2,66 zu 1,80 Mol%) und NH_3 (11,07 zu 8,62 Mol%) liegen an der Signifikanzgrenze. Die bei der Kontrollgruppe genannte Korrelation von THR und SER war $r=0,69$ bei dieser Gruppe.

Urämie-Gruppe (Tab. 4.4)

Für die meisten sauren und neutralen AS -siehe Tab.4.4- ergeben sich bei der Urämie-Gruppe gleiche Werte zur Kontrollgruppe. Die maximale Differenz beträgt 1 Mol% (bei ALA). Die Werte von THR und SER weisen einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,95$ auf. Erhöht sind die Anteile von ILE (von 1,55 auf 1,73 Mol%), LEU (1,45 auf 1,72 Mol%) und PHE (1,00 auf 1,57 Mol%)(Signifikanz zwischen 0,01 und 0,05).

Die Urämie-Gruppe weist eine andere Verteilung der basischen AS auf: ARG ist mit 4,48 Mol% signifikant er-

hört (gegenüber 1,8 Mol%), ORN um über 50% auf 1,14 Mol% erniedrigt. In ähnlicher Weise ist bei dem Paar UCS/HIS UCS auf 4,45 Mol% erhöht gegenüber 3,09 der Kontrollgruppe), HIS auf 7,17 Mol% vermindert. NH_3 hat um 3,3 Mol% zugenommen.

Adipositas-Gruppe (Tab. 4.4)

Wie bei den anderen Gruppen weicht die prozentuale Verteilung der freien AS im Stratum corneum im ersten Teil des Chromatogramms wenig von der Kontrollgruppe ab. Nur die Erhöhung von GLY: 15,7 auf 17,5 Mol% erreicht das Signifikanzniveau von $p < 0,05$. Ähnlich wie bei der Kontrollgruppe lag die Korrelation THR/SER bei $r = 0,81$. Von den weiteren AS sind ILE und LEU signifikant auf 1,37 bzw. 1,21 Mol% erniedrigt. Im basischen Teil des Chromatogramms findet sich eine abweichende Verteilung: bei der Adipositas-Gruppe ist ORN von 2,38 auf 6,00 Mol% erhöht, ARG von 1,8 auf 1,05 Mol% erniedrigt. Kleinere Werte finden sich auch für HIS (7,65 statt 9,5 Mol%) und NH_3 (5,7 Mol%). UCS ist wie bei der Urämie-Gruppe erhöht auf 4,43 Mol% (Signifikanz zwischen 0,05 und 0,005).

Damit weisen die verschiedenen Stoffwechselstörungen bei der prozentualen Verteilung der freien AS vor allem bei den verzweigtkettigen AS und den basischen AS erhebliche Unterschiede auf; ferner differieren UCS, NH_3 , PHE und GLY.

Hay'sche Trennkost (Tab. 4.5)

Die Ausgangswerte der prozentualen Verteilung der freien AS gleichen bei diesen Probanden denen der Kontrollgruppe. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede.

Die Relativverteilung nach 4-wöchiger Diät ist in Tab. 4.5 aufgelistet. Im wesentlichen bleibt die gleiche Verteilung bestehen. Als Tendenz läßt sich aus den Werten eine geringe Abnahme der sauren AS feststellen, z.B. bei SER von 28,9 auf 26,9 Mol%, während die verzweigtkettigen AS (ILE) und die basischen AS etwas zunehmen; nur die Erhöhung von ARG auf 2,5 Mol% erreicht das Signifikanzniveau.

Nulldiät (Tab. 4.5)

Die Mol%-Werte der einzelnen AS vor Durchführung der Nulldiät sind in Tab. 4.5 aufgelistet: diese Verteilung ist gegenüber der Kontrollgruppe gekennzeichnet durch eine Erhöhung von UCS, GLY und ORN, sowie eine Abnahme von ILE, LEU, NH_3 , HIS und ARG.

Die Relativverteilung bei Diätende ist ebenfalls in Tab. 4.5 dargestellt. Die Nulldiät-Gruppe weicht von der Kontrollgruppe durch den signifikant erniedrigten CIT-Anteil (5,2 statt 7,0 Mol%), und erhöhten VAL (3,48 statt 2,75 Mol%) und ILE-Anteil ab; ferner haben TYR und NH_3 abgenommen. Im basischen Chromatogrammteil nähern sich die LYS- und HIS-Werte denen der Kontrollgruppe, während sich das ursprüngliche Muster bei den anderen AS weiter verstärkte: weitere Erhöhung des ORN-Wertes (auf 6,23 Mol% im Mittel), weitere Abnahme von ARG auf 0,72 Mol% im Mittel ($p < 0,005$).

Die Veränderungen bei den meisten AS erreichen nicht

das Signifikanz-Niveau, z.B. die relative Zunahme von SER von 26,8 Mol% auf 28,7 Mol%. Das Verhältnis THR/SER bleibt unverändert ($r = 0,81$). Der Anteil der drei AS GLY, ALA, CIT verkleinerte sich um rund 3 Mol%, ohne daß bei der vorliegenden Varianz der einzelnen AS das Signifikanzniveau erreicht wird. Ähnliches gilt für die Veränderungen bei den basischen AS. Nur für VAL und ILE überschreitet die prozentuale Zunahme das 5% Signifikanzniveau (siehe Tab. 4.5).

Parenterale Ernährung (Tab. 4.5)

Diese Gruppe zeigt bereits bei den Konzentrationsangaben die größte Differenz zur Kontrollgruppe. Gleiches gilt für die prozentuale Verteilung der freien AS (siehe Tab. 4.5): die sauren AS haben zugenommen, z.B. THR auf 8,2 Mol% (gegenüber 6,84 Mol%), SER auf 32,5 Mol%. Dagegen hat der relative Anteil von GLY um rund 50% abgenommen auf 8,01 Mol%, der von CIT von 7,0 auf 5,1 Mol%, ALA auf 7,5 Mol% (gegenüber 9,9 Mol%)! Eine signifikante prozentuale Zunahme weisen ILE, LEU und TYR auf (siehe Tab. 4.5) ($p < 0,01$), während VAL prozentual gesehen nicht vermehrt ist. Im basischen Teil sind nur die Werte von NH_3 mit 15,7 Mol% und ARG mit 3,37 Mol% signifikant erhöht; die anderen basischen AS gleichen der Kontrollgruppe.

Somit finden sich bei dieser Gruppe ausgeprägte Veränderungen in der relativen Verteilung der freien AS. Die durch den katabolen Stoffwechsel verursachten Verschiebungen im AS-Muster sind bei den einzelnen Gruppen differenz; vor allem CIT, GLY und die verzweigtkettigen AS sind davon betroffen.

3. Verteilung der freien AS, bezogen auf GLY (GLY%)

Bei eigenen Vorversuchen an gesunden Probanden war GLY die AS mit der geringsten inter- und intraindividuellen Schwankungsbreite (HOFMANN). Deshalb wurde bei der folgenden Auswertung GLY als Standard gleich 100% gewertet, und die anderen AS entsprechend ihrer prozentualen Verteilung darauf bezogen. Auf die unterschiedliche Varianz wird in der Diskussion eingegangen.

Kontrollgruppe (Tab. 4.6)

Die Werte der Kontrollgruppe sind in Tab. 4.6 aufgelistet. Entsprechend der Relativverteilung ergibt sich eine Dominanz von SER, ALA, GLY, CIT und HIS.

Diabetes-mellitus-Gruppe (Tab. 4.6)

Für das gesamte erfaßte AS-Spektrum findet sich bei der Auswertung, bezogen auf GLY, kein signifikanter Unterschied zwischen der Diabetes-Gruppe und der Kontrollgruppe. Die größten Abweichungen bei den AS ALA, VAL, LEU, ILE, PHE und ARG betragen rund 10%.

Urämie-Gruppe (Tab. 4.6)

Die Tab. 4.6 zeigt, daß die Auswertung in GLY% bei der Urämie-Gruppe keine neuen Aussagen gegenüber der Relativverteilung (Mol%, Tab. 4.4) aufweist. Die höheren Werte von ILE, LEU, PHE, NH_3 und ARG im Vergleich zur Kontrollgruppe liegen bei einem Signifi-

kannniveau von $p < 0,05$. Die prozentuale Zunahme von SER und THR (229 gegenüber 181 Gly%) ist nicht signifikant.

Adipositas-Gruppe (Tab. 4.6)

Nachdem der Bezugspunkt GLY bei der prozentualen Verteilung einen größeren Anteil aufgewiesen hatte, sind die Werte vieler AS bei dieser Auswertung kleiner. Die meisten sauren AS sind um 10-15% erniedrigt, z.B. THR und SER. Nur ALA ist in Relation gleich zu GLY. Die Werte und Signifikanzen sind in Tab. 4.6 dargestellt. Bei den verzweigtkettigen und basischen AS entsprechen der verminderte relative Anteil von ILE, LEU, ARG (und NH_3) sowie der größere ORN-Wert der Mol%-Verteilung.

Insgesamt erbrachte bei den Stoffwechselstörungen die Auswertung mit GLY als Standard keine zusätzlichen Aspekte.

Hay'sche Trennkost (Tab. 4.7)

Die Auswertung der A- und B-Werte bei dieser Diät sind in Tab. 4.7 aufgeführt. Die A-Werte vor Diät weisen keinen signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe auf.

Die Werte nach Diätende weichen ebenfalls nicht von der Kontrollgruppe ab. Die wenigen größeren relativen Mittelwertverschiebungen - bei ARG von 12,9 auf 16,4 Gly%, bei NH_3 von 57,3 auf 81,3 Gly% - sind wegen der großen Standardabweichung nicht signifikant.

Ebenso zeigen die A/B-Werte im Vergleich keinen unterschiedlichen Befund.

Nulldiät (Tab. 4.7)

Bei dieser Gruppe gleicht die Verteilung der freien AS vor Durchführung der Diät die der Adipositas-Gruppe. Sie ist durch einen kleineren Anteil von THR, SER, ILE und LEU und die charakteristische Verteilung der basischen AS gekennzeichnet.

Während der Nulldiät kommt es, wie die früheren Tab. 4.3 und 4.5 zeigten, zu einer Konzentrationsabnahme von GLY. Die Auswertung der B-Werte, bezogen auf GLY, ergibt eine relative Abnahme von CIT und THR bei den sauren und neutralen AS ($p < 0,05$). VAL und ORN haben einen größeren Anteil, ARG und NH_3 einen kleineren relativen Anteil als bei der Kontrollgruppe ($0,01 < p < 0,05$); die genauen Werte können der Tab. 4.7 entnommen werden.

Beim Vergleich der Werte vor/nach Diät fällt die Zunahme des relativen SER-Anteils, die Abnahme von CIT, die Zunahme des VAL, ILE und LEU-Wertes auf; nur letzterer erreicht nicht die Signifikanzgrenze. Bei den basischen AS finden sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den A/B-Werten.

Parenterale Ernährung (Tab. 4.7)

Gegenüber den anderen Gruppen differierte die Ausgangsbasis signifikant (siehe Tab. 4.5). So ist verständlich, daß fast sämtliche AS bei dieser Auswertung um das 2-3 fache erhöht sind im Vergleich zur Kontrollgruppe. Nur ALA und CIT sind um das ca. 1,5 fache erhöht. Die genauen Werte und Signifikanzen sind in Tab. 4.7 aufgeführt.

Die "Relativität" der Werte bei dieser Auswertung geht aus den Tabellen hervor; der "Standard" GLY zeigte bei den Stoffwechseländerungen erhebliche Streuungen. Ein Vergleich ist daher nur eingeschränkt möglich.

Die Auswertung, bezogen auf eine AS, ergibt neben den Konzentrationsangaben (nmol/mg Keratin) und der prozentualen Verteilung (Mol%) nur wenig zusätzliche Information über Verschiebungen und Abhängigkeiten einzelner AS voneinander.

Tab.4.2: Verteilung der freien Aminosäuren der Haut bei
verschiedenen Stoffwechselstörungen;
Angaben in nmol/mg Keratin (Absolutwerte)

Amino- säure	Kontroll- Gruppe	Diabetes melli- tus - Gruppe	Urämie- Gruppe	Adipositas- Gruppe
UCS	19,94 $\pm$ 7,78	28,59 $\pm$ 11,74 *	29,40 $\pm$ 10,61 **	37,54 $\pm$ 9,19 ***
ASP	31,76 $\pm$ 14,41	54,07 $\pm$ 56,11	35,21 $\pm$ 11,25	40,45 $\pm$ 10,84
THR	43,58 $\pm$ 13,61	65,76 $\pm$ 30,77 **	47,75 $\pm$ 12,02	54,91 $\pm$ 13,73 *
SER	181,92 $\pm$ 60,44	278,28 $\pm$ 135,15 **	208,38 $\pm$ 53,91	228,27 $\pm$ 41,82 *
ASN	6,74 $\pm$ 2,94	7,94 $\pm$ 4,05	6,71 $\pm$ 2,11	9,90 $\pm$ 3,02 **
GLU	12,23 $\pm$ 5,13	17,50 $\pm$ 8,75	12,73 $\pm$ 4,87	14,72 $\pm$ 5,75
GLY	100,67 $\pm$ 32,44	155,78 $\pm$ 72,6 **	112,30 $\pm$ 59,18	148,0 $\pm$ 39,56 ***
ALA	62,91 $\pm$ 24,84	103,06 $\pm$ 45,5 ***	62,3 $\pm$ 21,07	88,54 $\pm$ 28,71 *
CIT	44,82 $\pm$ 18,28	68,36 $\pm$ 41,67	45,79 $\pm$ 14,24	54,45 $\pm$ 21,69
VAL	17,74 $\pm$ 5,99	29,25 $\pm$ 14,74 *	19,38 $\pm$ 2,40	22,41 $\pm$ 8,34
ILE	9,98 $\pm$ 2,77	15,75 $\pm$ 6,56 ***	12,11 $\pm$ 1,96 **	11,63 $\pm$ 2,26
LEU	9,10 $\pm$ 2,81	14,62 $\pm$ 5,60 ***	11,85 $\pm$ 2,93	10,25 $\pm$ 2,80
TYR	11,12 $\pm$ 3,08	16,39 $\pm$ 5,43 ***	12,57 $\pm$ 2,71	13,63 $\pm$ 2,90 *
PHE	6,35 $\pm$ 1,65	11,80 $\pm$ 8,77 **	10,97 $\pm$ 3,98 ***	8,90 $\pm$ 2,74 **
NH ₃	55,64 $\pm$ 26,54	98,20 $\pm$ 47,08 ***	81,22 $\pm$ 41,28 *	48,27 $\pm$ 10,51
ORN	15,18 $\pm$ 14,27	21,88 $\pm$ 19,80	7,65 $\pm$ 3,51	51,36 $\pm$ 20,11 ***
LYS	10,26 $\pm$ 4,77	15,73 $\pm$ 7,13 *	13,69 $\pm$ 4,68	17,90 $\pm$ 6,99 ***
HIS	60,58 $\pm$ 27,40	84,59 $\pm$ 50,40	50,61 $\pm$ 22,11	64,72 $\pm$ 20,26
ARG	11,79 $\pm$ 5,71	23,41 $\pm$ 14,85 *	32,5 $\pm$ 12,63 ***	10,63 $\pm$ 10,96

Summe: 636,7 $\pm$ 196,2 948,17 $\pm$ 257,8 702,5 $\pm$ 154,9 850,67 $\pm$ 199,0

Signifikanz: $p < 0,05$ = *
 $p < 0,01$ = **
 $p < 0,0025$ = ***

Tab.4.3: Verteilung der freien Aminosäuren der Haut bei verschiedenen Stoffwechseländerungen;
Angaben in nmol/mg Keratin (Absolutwerte)

Amino- säuren	Hay'sche Trennkost		Nulldiät		Parenterale Ernährung
	vor	nach	vor	nach	
UCS	19,94 ± 7,78	21,20 ± 9,31	37,54 ± 7,25	29,60 ± 10,44	21,34 ± 5,98
ASP	31,76 ± 14,41	31,86 ± 16,37	40,45 ± 10,84	37,72 ± 16,52	28,95 ± 18,27
THR	42,98 ± 12,98	43,55 ± 14,89	54,90 ± 14,10	47,01 ± 16,2	39,73 ± 9,54
SER	186,92 ± 58,3	181,76 ± 75,52	227,27 ± 41,80	193,17 ± 61,20	162,61 ± 57,35
ASN	6,84 ± 2,94	7,18 ± 2,82	9,90 ± 3,02	7,95 ± 3,06	5,16 ± 3,42
GLU	12,72 ± 5,20	13,95 ± 5,71	14,92 ± 5,75	13,01 ± 6,23	7,89 ± 1,31
GLY	102,67 ± 32,44	108,45 ± 55,8	148,0 ± 39,56	108,81 ± 33,92	40,9 ± 17,54
ALA	63,91 ± 23,91	66,56 ± 28,39	87,25 ± 28,71	63,09 ± 17,31	38,93 ± 19,09
CIT	45,23 ± 17,89	49,21 ± 20,12	53,86 ± 20,98	34,72 ± 12,64	25,95 ± 10,56
VAL	17,74 ± 5,99	18,89 ± 6,1	22,01 ± 8,23	22,63 ± 6,69	14,52 ± 5,39
ILE	9,92 ± 2,69	11,02 ± 3,59	10,93 ± 2,29	11,01 ± 3,51	11,45 ± 2,47
LEU	9,15 ± 2,79	10,06 ± 2,77	10,15 ± 2,75	9,54 ± 3,82	11,37 ± 3,47
TYR	11,38 ± 3,01	12,33 ± 3,54	13,58 ± 2,95	9,50 ± 4,36	12,02 ± 2,62
PHE	6,31 ± 1,65	7,41 ± 2,56	9,01 ± 2,57	7,54 ± 4,23	5,82 ± 1,64
NH ₃	56,89 ± 26,10	72,79 ± 51,54	48,95 ± 10,51	39,27 ± 15,73	73,04 ± 10,03
ORN	14,87 ± 14,27	14,65 ± 9,49	50,65 ± 19,23	44,09 ± 27,43	14,04 ± 8,08
LYS	10,78 ± 4,77	12,94 ± 7,01	17,13 ± 6,89	14,01 ± 10,73	20,58 ± 15,96
HIS	58,47 ± 26,30	65,34 ± 20,58	66,01 ± 20,26	57,09 ± 23,31	42,11 ± 28,30
ARG	11,21 ± 5,54	15,51 ± 5,93	10,25 ± 9,63	8,54 ± 11,02	15,45 ± 9,66
Summe:	642,8 ± 191,2	670,67 ± 229,9	846,3 ± 189,2	688,8 ± 232,5	497,5 ± 167,2

Tab.4.4: Verteilung der freien Aminosäuren der Haut bei verschiedenen Stoffwechselstörungen; Mol%; Angaben in mol AS/mol Gesamt-AS (Relativwerte)

Aminosäuren	Kontroll-Gruppe	Diabetes mellitus-Gruppe	Urämie-Gruppe	Adipositas-Gruppe
UCS	3,09 ± 0,8	3,07 ± 0,8	4,45 ± 1,81 **	4,43 ± 1,04 ***
ASP	4,97 ± 1,73	4,90 ± 2,71	4,91 ± 1,37	4,78 ± 0,90
THR	6,84 ± 0,89	6,66 ± 0,73	6,82 ± 1,37	6,49 ± 0,58
SER	28,55 ± 3,90	27,84 ± 3,69	29,68 ± 5,31	26,93 ± 2,43
ASN	1,05 ± 0,25	0,86 ± 0,37	0,94 ± 0,24	1,17 ± 0,17
GLU	1,91 ± 0,51	1,91 ± 0,82	1,74 ± 0,49	1,73 ± 0,51
GLY	15,76 ± 2,12	16,08 ± 4,45	15,46 ± 5,83	17,51 ± 1,77 *
ALA	9,89 ± 2,14	10,55 ± 1,69	8,80 ± 2,28	10,46 ± 1,92
CIT	6,99 ± 1,87	6,89 ± 2,01	6,46 ± 1,35	6,43 ± 2,02
VAL	2,75 ± 0,47	2,97 ± 0,39	2,80 ± 0,42	2,65 ± 0,46
ILE	1,55 ± 0,17	1,65 ± 0,23	1,73 ± 0,32 *	1,37 ± 0,16 *
LEU	1,45 ± 0,24	1,58 ± 0,37	1,72 ± 0,52 *	1,21 ± 0,30 *
TYR	1,74 ± 0,31	1,78 ± 0,34	1,83 ± 0,53	1,67 ± 0,32
PHE	1,00 ± 0,25	1,20 ± 0,53	1,57 ± 0,55 ***	1,08 ± 0,31
NH ₃	8,62 ± 2,44	11,07 ± 4,85 *	11,86 ± 5,97 *	5,70 ± 1,56 ***
ORN	2,38 ± 2,29	2,20 ± 1,14	1,14 ± 0,68 *	6,00 ± 2,12 ***
LYS	1,61 ± 0,81	1,76 ± 0,80	1,96 ± 0,58	2,10 ± 0,62
HIS	9,51 ± 2,00	8,52 ± 2,55	7,17 ± 2,86 *	7,65 ± 1,81 *
ARG	1,80 ± 0,98	2,66 ± 1,60	4,48 ± 1,91 ***	1,05 ± 0,82 *

Tab.4.5: Verteilung der freien Aminosäuren der Haut bei verschiedenen Stoffwechseländerungen; Mol%; Angaben in mol AS/mol Gesamt-AS (Relativwerte)

Aminosäuren	Hay'sche Trennkost		Nulldiät		Parenterale Ernährung
	vor	nach	vor	nach	
UCS	3,09 ± 0,79	3,31 ± 1,15	4,38 ± 1,04	3,93 ± 1,54	4,43 ± 0,87
ASP	4,90 ± 1,68	4,81 ± 1,53	4,69 ± 0,95	5,27 ± 1,31	5,61 ± 1,99
THR	5,66 ± 0,88	6,56 ± 0,48	6,44 ± 0,56	6,22 ± 0,47	8,21 ± 1,48
SER	28,90 ± 3,85	26,90 ± 1,56	26,85 ± 2,34	28,73 ± 3,21	32,57 ± 0,57
ASN	1,05 ± 0,25	1,09 ± 0,30	1,19 ± 0,22	1,15 ± 0,27	0,97 ± 0,33
GLU	1,97 ± 0,51	2,11 ± 0,65	1,84 ± 0,49	1,89 ± 0,86	1,65 ± 0,31
GLY	15,93 ± 2,05	15,67 ± 2,09	17,56 ± 1,81	16,25 ± 2,11	8,01 ± 1,17
ALA	9,90 ± 2,18	9,71 ± 1,78	10,29 ± 1,95	9,31 ± 1,83	7,54 ± 2,38
CIT	7,01 ± 1,88	7,34 ± 1,98	6,34 ± 1,95	5,24 ± 1,58	5,12 ± 0,44
VAL	2,75 ± 0,47	2,85 ± 0,27	2,96 ± 0,55	3,48 ± 0,61	2,89 ± 0,14
ILE	1,53 ± 0,18	1,66 ± 0,14	1,39 ± 0,18	1,67 ± 0,25	2,37 ± 0,36
LEU	1,41 ± 0,25	1,54 ± 0,21	1,30 ± 0,29	1,41 ± 0,31	2,30 ± 0,16
TYR	1,75 ± 0,30	1,90 ± 0,33	1,67 ± 0,32	1,53 ± 0,23	2,50 ± 0,37
PHE	0,97 ± 0,25	1,12 ± 0,22	1,08 ± 0,29	1,14 ± 0,28	1,18 ± 0,09
NH ₃	8,82 ± 2,44	10,20 ± 4,75	5,75 ± 1,60	4,89 ± 2,03	15,77 ± 5,60
ORN	2,30 ± 2,04	2,30 ± 1,54	5,83 ± 1,49	6,23 ± 2,76	2,64 ± 1,06
LYS	1,67 ± 0,81	2,40 ± 1,49	2,20 ± 0,85	1,78 ± 1,25	2,27 ± 0,55
HIS	9,28 ± 1,98	10,0 ± 1,72	7,80 ± 1,86	8,04 ± 2,36	10,72 ± 1,33
ARG	1,74 ± 0,96	2,50 ± 1,16	1,04 ± 0,99	0,72 ± 0,60	3,37 ± 1,11

Bei den B-Werten beziehen sich die links-seitigen Signifikanzen auf den statistischen Vergleich des A-Werts, die rechtsseitigen auf die Kontrollgruppe.

Tab.4.6: Verteilung der freien Aminosäuren der Haut bei verschiedenen Stoffwechselstörungen; GLY%; Angaben in Prozent, bezogen auf GLY

Aminosäuren	Kontroll-Gruppe	Diabetes mellitus-Gruppe	Uramie-Gruppe	Adipositas-Gruppe
UCS	12,72 $\pm$ 3,62	13,54 $\pm$ 6,1	11,7 $\pm$ 7,98	27,27 $\pm$ 9,14 ***
ASP	31,54 $\pm$ 10,79	33,8 $\pm$ 22,58	37,41 $\pm$ 18,4	28,61 $\pm$ 7,19
THR	43,82 $\pm$ 6,74	44,81 $\pm$ 13,96	52,62 $\pm$ 27,3	37,29 $\pm$ 3,98 *
SER	181,2 $\pm$ 31,0	185,8 $\pm$ 59,5	229,8 $\pm$ 121,3	162,23 $\pm$ 27,78 *
ASN	6,69 $\pm$ 1,85	6,03 $\pm$ 3,47	7,12 $\pm$ 3,4	6,75 $\pm$ 1,42
GLU	12,2 $\pm$ 3,44	13,13 $\pm$ 8,36	12,8 $\pm$ 6,57	10,35 $\pm$ 3,81
GLY	100	100	100	100
ALA	62,1 $\pm$ 12,6	68,45 $\pm$ 14,81	62,7 $\pm$ 23,7	60,27 $\pm$ 8,6
CIT	45,2 $\pm$ 13,7	45,36 $\pm$ 16,87	45,2 $\pm$ 13,3	36,6 $\pm$ 10,2
VAL	17,8 $\pm$ 3,17	19,58 $\pm$ 4,92	20,7 $\pm$ 8,46	16,91 $\pm$ 3,28
ILE	10,1 $\pm$ 1,33	11,0 $\pm$ 3,01	13,21 $\pm$ 5,82 *	8,33 $\pm$ 1,53 **
LEU	9,17 $\pm$ 1,52	10,51 $\pm$ 3,55	13,0 $\pm$ 6,05 *	7,26 $\pm$ 1,59 *
TYR	11,33 $\pm$ 2,07	11,68 $\pm$ 3,02	13,5 $\pm$ 6,45	9,92 $\pm$ 3,47
PHE	6,60 $\pm$ 1,69	7,83 $\pm$ 2,94	12,61 $\pm$ 8,75 *	6,31 $\pm$ 2,44
NH ₃	55,13 $\pm$ 20,10	69,56 $\pm$ 24,71	87,12 $\pm$ 60,02	34,21 $\pm$ 9,35 **
ORN	14,75 $\pm$ 11,21	13,89 $\pm$ 7,41	8,92 $\pm$ 6,53	35,94 $\pm$ 15,26 ***
LYS	10,63 $\pm$ 4,71	11,44 $\pm$ 5,94	13,70 $\pm$ 4,18	12,92 $\pm$ 5,34
HIS	60,04 $\pm$ 14,46	59,01 $\pm$ 25,6	51,28 $\pm$ 29,73	49,11 $\pm$ 12,06 *
ARG	12,43 $\pm$ 6,67	18,11 $\pm$ 12,23	36,21 $\pm$ 23,50 ***	6,07 $\pm$ 3,82 **

Signifikanz: p < 0,05 = *
p < 0,01 = **
p < 0,0025 = ***

Tab.4.7: Verteilung der freien Aminosäuren der Haut bei verschiedenen Stoffwechseländerungen; GLY%; Angaben in Prozent, bezogen auf GLY

Aminosäuren	Hay'sche Trennkost		Nulldiät		Parenterale Ernährung
	vor	nach	vor	nach	
UCS	12,95 ± 3,5	15,90 ± 6,83	26,97 ± 9,05	26,19 ± 6,57	33,11 ± 7,93
ASP	30,97 ± 10,2	30,88 ± 10,18	28,59 ± 7,34	34,96 ± 13,31	71,72 ± 27,34
THR	44,05 ± 6,68	42,50 ± 6,39	38,12 ± 4,26	38,63 ± 8,09	106,4 ± 36,72
SER	181,52 ± 29,85	173,75 ± 18,88	165,98 ± 27,5	180,54 ± 29,65	412,2 ± 60,60
ASN	6,75 ± 1,78	7,27 ± 2,56	6,84 ± 2,99	6,95 ± 1,65	12,33 ± 3,84
GLU	12,82 ± 3,54	13,65 ± 4,71	10,55 ± 4,01	11,08 ± 4,12	21,33 ± 7,48
GLY	100	100	100	100	100
ALA	63,2 ± 12,65	62,94 ± 14,21	60,92 ± 8,45	57,38 ± 9,23	92,65 ± 17,43
CIT	45,56 ± 12,93	47,83 ± 16,18	37,54 ± 10,23	32,33 ± 8,17	64,38 ± 8,07
VAL	17,78 ± 3,15	18,60 ± 3,12	17,41 ± 3,28	21,05 ± 4,26	36,54 ± 3,89
ILE	10,56 ± 1,55	10,80 ± 1,91	8,25 ± 1,42	10,35 ± 2,28	30,61 ± 9,73
LEU	9,97 ± 1,66	10,24 ± 2,39	7,73 ± 2,17	8,06 ± 1,93	29,47 ± 6,67
TYR	11,81 ± 1,97	12,49 ± 2,87	10,01 ± 3,06	10,04 ± 3,06	32,37 ± 10,1
PHE	7,07 ± 1,17	7,38 ± 1,90	6,41 ± 2,35	5,92 ± 4,23	15,28 ± 3,64
NH ₃	57,34 ± 19,76	81,39 ± 6,74	35,78 ± 10,14	35,96 ± 11,81	143,68 ± 19,25
ORN	14,92 ± 12,70	15,48 ± 11,83	34,76 ± 14,93	39,22 ± 19,41	32,25 ± 9,36
LYS	10,95 ± 4,72	12,71 ± 6,40	12,87 ± 4,93	12,90 ± 10,06	74,21 ± 88,1
HIS	64,13 ± 10,65	65,47 ± 16,22	49,55 ± 12,06	52,81 ± 16,80	92,53 ± 43,76
ARG	12,93 ± 6,64	16,42 ± 7,23	6,02 ± 3,88	5,05 ± 5,47	43,96 ± 22,27

Signifikanzen : p < 0,05 = *
p < 0,01 = **
p < 0,0025 = ***

V. DISKUSSION

Zum besseren Verständnis wird zunächst die Problemstellung nochmals kurz aufgegriffen.

Für den Körper stellt die Haut die Schutz- und Kontaktschicht zur Außenwelt dar. Dabei ist von dem Organ Haut wiederum die Epidermis die äußerste, sehr dünne, ca. 140 µm dicke Schicht. Sie zeichnet sich vor allem durch ihre Festigkeit und ihre Barrierefunktion aus.

Biochemisch gesehen stellt die Epidermis ein organisiertes Gemisch aus organischen und anorganischen Stoffen dar, deren komplexe Anordnung die biologischen Aufgaben ermöglichen. Eine chemische Analyse der obersten Epidermisschicht (Stratum corneum) ergibt die 4 Fraktionen:

Skleroproteine	50 - 58 %
Wasserlösliche Substanzen	26 - 42 %
Wasser	2 - 20 %
Lipide	4 - 20 %

Dabei stellen in der wasserlöslichen Fraktion des Stratum corneum die freien AS den größten Anteil mit rund 40% (entsprechend rund 16% des Gesamtgehalts). Die freien AS sind im Gegensatz zu den verschiedenen Proteinfraktionen relativ unabhängig vom jeweilig verwandten Extraktionsverfahren, und stellen klar definierte chemische Substanzen dar. Daher boten sie sich als Meßparameter an.

Bekanntlich sind die freien AS im WL mit der Keratinisierung eng verknüpft. Bei Dermatosen mit Parakeratose oder Dyskeratose weisen sie sehr unterschiedliche Muster gegenüber gesunden Probanden auf, wie mehrere Studien belegen (Siehe Monographie SCHWARZ; STÜTTGEN;

PRATZEL; HERMANN). Dies betrifft sowohl qualitative wie quantitative Veränderungen.

Neben dermatologischen Krankheitsbildern können auch nutritive Faktoren die Haut bzw. die Keratinisierung beeinflussen: eindeutige Befunde liegen vor für die Vitamine A, K, B2 und B6, die Spurenelemente Zink und Kupfer und für die essentiellen Fettsäuren, um nur die wichtigsten zu nennen (siehe Monographie ROE:Nutrition-And The Skin).

Hierbei existieren zwar ausführliche histologisch-pathologische Befunde, aber kaum biochemische Befunde über die Veränderungen der wasserlöslichen Fraktion und die freien AS der Hornschicht (SHERERTZ; NELDNER; DANKS; ROE; BAMJI). Ferner ließen sich trotz intensiver Literaturdurchsicht keine Befunde hinsichtlich der freien AS bei anderen Stoffwechselstörungen oder über die Auswirkungen des Proteinstoffwechsels finden, mit Ausnahme der bekannten hereditären AS-Stoffwechselstörungen wie z.B. Phenylketonurie.

Bei einer retrospektiven, auf subjektiver Einschätzung beruhenden Studie von PRATZEL zeichneten sich fragliche Korrelationen zwischen den Ernährungsgewohnheiten und der Verteilung der freien AS der Epidermis ab (siehe Tab. 5.1).

Tab. 5.1: Relative Verteilung der freien AS bei verschiedener Ernährung

Substanzen	Geschlecht		Kohlenhydrat-konsum			Eiweiß-konsum			Fett-konsum		
	m (99)	w (93)	wenig (27)	normal (142)	viel (23)	wenig (35)	normal (137)	viel (29)	wenig (95)	normal (89)	viel (8)
UCS	9,13		3,61	9,98	5,29				7,91	10,23	5,75
	8,6		0,5	4,8	3,8				5,1	4,6	5,1
HAR	13,88		2,83	15,04	11,56	8,75	15,55	9,62	9,15	17,66	5,72
	23,6		0,8	17,2	14,0	7,5	18,4	9,8	9,8	19,6	3,0
ASP	3,63										
	2,3										
THR	6,3	6,74									
	1,0	1,3									
SER	30,01		33,46	29,19	31,09				31,11	29,10	27,36
	7,3		5,4	4,8	5,1				6,3	3,3	2,0
ASN	0,82		0,47	0,93	0,55	0,62	0,92	0,49	0,62	1,05	0,66
	1,2		0,3	0,9	0,3	0,5	1,0	0,3	0,6	1,0	0,3
GLU	2,56	2,16				1,96	2,46	2,42	2,22	2,38	3,88
	1,2	1,2				0,8	1,3	1,2	1,1	1,2	1,3
GLY	15,56		16,38	15,29	16,33				16,13	15,08	14,41
	3,5		2,1	2,5	2,3				3,2	1,2	1,1
ALA	10,64										
	3,4										
CIT	8,88		6,04	9,75	6,84	10,86	8,66	6,96	8,36	9,46	8,66
	5,0		2,3	3,5	1,9	4,1	3,2	3,3	3,7	3,3	2,5
VAL	2,53										
	1,0										
ILE	1,48		1,28	1,54	1,37				1,39	1,57	1,56
	0,6		0,2	0,5	0,2				0,3	0,5	0,2
LEU	1,24		1,09	1,27	1,23						
	0,5		0,2	0,4	0,3						
TYR	1,66		1,37	1,73	1,57				1,63	1,65	2,08
	0,8		0,4	0,6	0,5				0,8	0,4	0,3
PHE	0,77										
	0,7										
ORN	2,72		4,37	2,26	3,37	1,50	2,84	4,13	3,21	2,28	1,93
	3,2		2,1	2,1	2,1	2,1	2,2	2,3	2,3	2,2	1,4
LYS	1,59		1,83	1,48	2,04	1,21	1,68	1,74			
	1,1		0,9	0,6	1,3	0,7	0,8	0,8			
HIS	5,13					4,38	5,25	5,62	2,31	2,79	4,30
	2,3					1,2	1,7	1,7	1,5	1,5	2,2
ARG	2,85	2,32									
	1,8	1,3									

	Broca-Index			Ernährungszustand			
	hager 20% (30)	norm. (96)	dick 20% (18)	adipös (34)	gut (138)	ausreichend (12)	mager (8)
UCS							
HAR	16,69	13,59	10,68	10,09	15,53	6,80	6,17
	19,2	17,1	5,7	8,6	18,6	6,6	1,0
ASP							
THR							
SER							
ASN	1,19	0,99	0,71				
	1,0	0,9	0,5				
GLU	2,38	2,79	2,18				
	1,0	1,3	0,9				
GLY				14,80	15,49	17,04	15,70
				1,7	2,0	3,4	0,8
ALA							
CIT	9,66	9,30	13,17	10,35	8,53	8,98	15,20
	3,3	3,0	2,7	3,7	3,1	4,3	0,2
VAL				2,52	2,57	2,30	2,85
				0,5	0,8	0,3	0,7
ILE							
LEU							
TYR				1,84	1,64	1,52	1,65
				0,6	0,6	0,4	0,1
PHE							
ORN	2,65	2,51	0,59	1,97	2,82	3,00	0,25
	2,1	2,1	0,2	1,9	2,2	2,1	0,1
LYS	1,82	1,54	1,19				
	0,7	0,6	0,4				
HIS	5,67	5,32	4,48				
	1,4	1,8	0,9				

Daher wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht:
Beeinflussen Stoffwechselstörungen die Zusammensetzung des AS-Musters im Stratum corneum? Dafür wurden Patienten mit Diabetes mellitus, Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und mit massiver, alimentär bedingter Adipositas untersucht.

Ferner wurde überprüft, ob eine massive katabole Stoffwechseländerung das AS-Muster beeinflusst. Hierzu wurden Patienten mit 4-wöchiger Nulldiät, mit ausschließlicher parenteraler Ernährung ("Postaggressionsstoffwechsel") und mit 4-wöchiger Hay'scher Trennkost untersucht.

Bei der folgenden Diskussion wird zuerst auf die Befunde und ihre physiologischen und funktionellen Aspekte eingegangen, und dann auf die zur Methodik gehörenden Aspekte. Dabei werden die verschiedenen Gruppen meist zusammen im Hinblick auf die jeweilige biologische Fragestellung bewertet.

Bei der durchgeführten Untersuchung stand zunächst die Frage im Vordergrund:

A. Wie ist die Konzentration und Gesamtmenge der freien AS bei den verschiedenen Stoffwechselstörungen ?

Die Ergebnisse der Konzentrationen an freien AS sind in Tab. 4.1 aufgelistet. Bei den gesunden Probanden der Kontrollgruppe ergaben sich 636,7 nmol/mg Keratin bzw. 360,1 nmol/cm². Diese Werte liegen um 20-30% niedriger als bei ähnlichen Untersuchungen (BAUER; SPIER; SCHWARZ; FRIES); letztere verwandten aber teilweise andere Abrißmethodik und andere Bezugssysteme.

Für die verschiedenen Stoffwechselstörungen zeigten sich unterschiedliche Ergebnisse. Bei der Adipositas-Gruppe lag die Gesamt-Konzentration der AS um ca. 25 % über der Kontrollgruppe. Eine derartige Vermehrung der

AS kongruiert mit dem übrigen Stoffwechsel bei Adipositas ("Eiweiß-Mast"). Auch bei der Diabetes-Gruppe ist, unter Bezug auf die Keratinmenge, der Gesamtgehalt an freien AS signifikant erhöht (984,17 nmol gegenüber 636,7 nmol im Mittel). Dies läßt sich einerseits durch die Übergewichtigkeit der Probanden, andererseits durch die veränderte AS-Utilisation bei der Grunderkrankung erklären. Ähnliche Befunde bei Diabetikern zeigte eine Untersuchung von GLOOR, wobei mittels Ninhydrinreaktion, ohne weitere Differenzierung, eine Erhöhung der AS im wasserlöslichen Anteil des Stratum corneum gefunden wurde. Ebenso könnte der erhöhte Altersdurchschnitt dieser Gruppe -nach SCHWARZ sind die freien AS des Stratum corneum im Alter vermehrt- eine Rolle spielen (Schwarz 1974).

Auffällig war-siehe Tab. 4.1-eine statistisch signifikante Verringerung der Keratinmenge bei den Diabetikern: 4,17 mg Keratin im Mittel gegenüber 7,07 mg der Kontrollgruppe. Welche Gründe zu einer verminderten Keratinmenge führten- Alter der Patienten, hormonelle Einflüsse, veränderter Lipidstoffwechsel, lokale physikalische Faktoren der Haut- muß offen bleiben, da sich in der zugänglichen Literatur kein Hinweis darauf fand (MARCHIONINI; SCHWARZ; STÜTTGEN; HERMANN). Ferner bleibt spekulativ, ob bei den Diabetikern eine negative Korrelation zwischen verringerter Keratinmenge und vermehrten freien AS besteht. Bei vielen Dermatosen, die mit Dyskeratose einhergehen, findet sich ein anderes Bild: hier ist meist der Gesamt-N-Gehalt (=Keratin) unverändert, die Anteile des WL bzw. die freien AS aber stark vermindert (SCHWARZ).

Einen überraschenden Befund lieferten die Messergebnisse bei den Urämikern (Tabelle 4.1): der Gesamt-AS-Gehalt/mg Keratin unterscheidet sich nicht von dem der Kontrollgruppe. Da die Keratinmenge verringert ist, ist

der Gesamtgehalt an AS, bezogen auf die Fläche, um ca. 1/3 reduziert. Dies stimmt sehr gut mit den Veränderungen des Eiweißstoffwechsels z.B. Proteinurie bei Urämie überein (FÜRST; ALVESTRAND; KOPPLE 1978).

Die unterschiedlichen Keratinmengen sind mit unterschiedlichen Hornschichtdicken gleichzusetzen. Dies bedeutet im pharmakologischen und physiologischen Bereich wegen der zu erwartenden unterschiedlichen Permeabilität der Haut signifikante Auswirkungen. Darauf wird später noch eingegangen.

Bei der Gruppe "Parenterale Ernährung" fand sich ebenfalls eine starke Verminderung der Keratinmenge (Tabelle 4.1). Dies stimmt mit histologischen Untersuchungen überein bei denen eine Verminderung der Basalmembran, Hautdicke und Hautoberfläche nach Malnutrition gefunden wurde (ALVAREZ). Ferner findet sich tierexperimentell bei kwashiorkorähnlichen Zuständen eine 50% Minderung des Proteingehalts der Epidermis (SMITH; ALVAREZ). In Übereinstimmung dazu war die Gesamtkonzentration der freien AS mit 497 nmol/mg Keratin bei dieser Patientengruppe signifikant erniedrigt. Daraus ergibt sich eine Reduktion des gemessenen AS-Pools um über 60% (siehe Tab. 4.1). Dies korreliert sowohl mit dem extrem katabolen Gesamtstoffwechsel beim "Postaggressionssyndrom" als auch mit der hohen Gewichtsabnahme (DITSCHUNEIT).

Ein mehrwöchiger kataboler Stoffwechsel lag auch bei der Nulldiät-Gruppe vor. Aus Tab. 4.1 geht hervor, daß sich die Gesamtkonzentration an freien AS binnen 4 Wochen von 846,3 auf 688,8 nmol AS/mg Keratin verringerte; der zweite Wert differierte nicht mehr signifikant von der Kontrollgruppe. Auch bei dieser Gruppe zeigt sich eine Korrelation zwischen negativer N-Bilanz und der Gesamt-AS-Menge des Stratum corneums.

Die Hay'sche Trennkost wurde als milde Reduktionskost gewertet (WALB u. WALB), die in 4 Wochen im Schnitt eine Gewichtsreduktion von 1,6 kg erbrachte. Die Meßwerte nach der 4-wöchigen Kost ergaben für die Gesamt-AS-Menge und den Keratingehalt keine Veränderungen (siehe Tab. 4.1).

Somit zeigt die Gesamtmenge der freien AS, bezogen auf mg Keratin, bei den verschiedenen untersuchten Gruppen deutliche Unterschiede: die Gesamtkonzentration der AS korreliert mit der jeweiligen Stoffwechselsituation, und weist eine ausgeprägte Reduktion bei katabolem Stoffwechsel auf. Vergleichbare Studien waren in der Literatur nicht zu finden.

Nachdem sich zwischen dem Gesamtgehalt der freien AS des Stratum corneum und dem Gesamtstoffwechsel Zusammenhänge abzeichneten, stellte sich als nächste Frage:

B. Bestehen bei den einzelnen AS Zusammenhänge zwischen dem Serumspiegel und der Konzentration im Stratum corneum?

Theoretisch könnten die freien AS der Epidermis zwei Quellen entstammen: zum einen könnten sie ausschließlich den Regulationsmechanismen "vor Ort" unterliegen und in der Epidermis synthetisiert, reguliert und freigesetzt werden. Dafür spricht der unterschiedliche Einbau einzelner AS im Stratum basale, spinosum und granulosum, die Zusammensetzung der verschiedenen Peptid-Vorläufer des Keratins (s. Tab. 5.2) und die veränderten AS-Muster beispielsweise bei Dyskeratosen (FUKUYAMA; BADEN; SCHWARZ; SPIER u. PASCHER).

Zum anderen könnten die AS der Epidermis von den AS-Spiegeln im Blut abhängen: die gefäßlose Epidermis

wird ausschließlich durch Diffusion via Basalmembran ernährt, und hängt damit unmittelbar vom jeweiligen AS-Einstrom ab. Das Zellzytoplasma, die membranlosen Keratohyalingranula und weitere Organellen stehen miteinander in Verbindung (SCOTT; RUPEC 1965; BRODY). Bei der partiellen Freisetzung dieser Kompartimente während der Keratinisierung könnte so eine direkte Beziehung zwischen den Serum-AS-Spiegeln und den freien AS des WL resultieren (TABACHNIK; KÜGELGEN). Dagegen spricht die bei vielen Untersuchungen gefundene erstaunliche regionale Vielfalt der AS-Spiegel in den einzelnen Geweben, z.B. Tonsillen, Knochen, Muskeln, Nase (FELIG 1977; ALVESTRAND 1983; DOI; SCOLARI; HILDING). Daher überwiegen wohl die lokalen Mechanismen bei der Konzentrationsregulation der freien AS.

Die Werte der freien AS im Stratum corneum von gesunden Probanden sind aus mehreren Untersuchungen bekannt. Die Werte der freien AS im Blutserum gesunder Probanden sind in Tab. 5.2 aufgeführt (CIBA GEIGY; BÜRGER).

Was die Serum-AS beim Diabetes mellitus betrifft, finden sich mehrere, teils unterschiedliche Befunde (BÜRGER; FELIG 1977; HERMANN; LOHMANN; CARLSTEN): meist gilt als charakteristischer Befund eine ausgeprägte Erhöhung der ketoplastischen, verzweigtkettigen AS ILE, LEU und VAL sowie eine Verminderung von ALA und THR. Darüber hinaus fanden sich bei einigen Untersuchern verminderte Spiegel für die AS SER, GLY, ORN (und PRO). BÜRGER konnte einen engen Zusammenhang zwischen den Serum-AS und der diabetischen Stoffwechseleinstellung aufzeigen, DEFRONZO eine erhöhte Insulinresistenz als Ursache der Veränderungen.

Die Meßwerte der Hauteluat sind aus Tab. 4.2, 4.4 und 4.6 ersichtlich. Bezogen auf mg Keratin, ist ein Groß-

teil der AS im Hauteluat erhöht. Vor allem die verzweigtkettigen AS ILE, LEU (und PHE) sind, in Übereinstimmung mit den Serum-AS-Spiegeln, signifikant vermehrt ($p < 0,01$). Im Gegensatz zu den Serum-Werten sind auch die übrigen glucoplastischen AS wie THR, GLY und ALA im Stratum corneum erhöht. Die relative Verteilung unterscheidet sich nicht von der Kontrollgruppe bis auf die Zunahme von ARG.

Somit läßt sich nach den vorliegenden Ergebnissen zwischen den Serum-AS-Spiegeln und der Konzentration der einzelnen freien AS im Hauteluat beim Diabetes mellitus bis auf ILE und LEU keine Korrelation feststellen.

Die Urämie-Gruppe zeigt bei den Hauteluaten ein charakteristisches Bild: die meisten sauren und neutralen AS weichen weder in ihrer Konzentration noch in ihrer Relativverteilung von den Werten der Kontrollgruppe ab. Insbesondere GLY, ALA, THR und CIT und TYR entsprachen der Kontrollgruppe. Die AS ILE, LEU und PHE aber sind signifikant erhöht, desgleichen ARG im basischen Teil des Chromatogramms.

Über die freien AS im Blut bei Urämikern gibt es viele einander widersprechende Befunde (BÜRGER; ALVESTRAND; KOPPLE; HELD; COUNAHAN). Dies könnte zum einen daran liegen, daß sich unter dem Begriff "Urämie" verschiedene Krankheitsbilder (z.B. chronische Pyelonephritis, Z.n.Phenacetinabusus, chron. Glomerulonephritis etc.) finden, die letztlich durch eine massiv eingeschränkte bis aufgehobene Nierenfunktion mit Anstieg der harnpflichtigen Substanzen gekennzeichnet sind; zum anderen könnten die verschiedenen Ergebnisse auf unterschiedliche Untersuchungstechniken zurückzuführen sein (GULYASSY; TIZIANELLO; HECKING; BÜRGER; MCGALE; METCOFF). Die schnellen Veränderungen der Blut-AS-Spiegel, z.B. während einer Dialyse, könnten

auch eine Rolle spielen (McGALE; BÜRGER; HELD; AUGUSTIN).

Als charakteristische Veränderung des Blut-AS-Spiegels bei Urämikern bzw. Dialyse-Patienten wird eine deutliche Verringerung der essentiellen AS angesehen; ILE und LEU, VAL, THR, LYS und das für diese Patienten ebenfalls essentielle HIS sind betroffen. Andererseits fanden die meisten Untersucher im Blut eine Erhöhung von ORN, ARG, CIT und CYS (COUNAHAN; ALVESTRAND; FÜRST; KOPPLE; HELD). Hinsichtlich der übrigen AS differieren die Angaben sehr; meist wird SER als vermindert, GLY und ALA als erhöht angegeben.

Beim Vergleich Haut/Serum finden sich ähnliche Werte betreffend die AS TYR und PHE: durch eine Blockierung der PHE-Hydroxylase kommt es zu einer Verringerung von TYR bzw. zu einem verminderten TYR/PHE-Quotienten. Im Hauteluat reduziert sich durch die 150% Erhöhung von PHE der Quotient TYR/PHE von 1,5-1,7 auf 1,15-1,25! Entsprechendes gilt für das Serum. Weitere Übereinstimmungen zwischen den Serum-AS und den Haut-AS bei Urämie finden sich im basischen Teil: Verminderung von HIS, Erhöhung von NH_3 und ARG: die signifikante Zunahme von ARG im Hauteluat von 1,8 mol% auf 4,5 mol% (siehe Tab. 4.4) geht mit einer Verminderung von ORN einher, sodaß die Verschiebung eines enzymatischen Gleichgewichts beim Harnstoffzyklus vermutet werden darf (BUDDECKE). Ob hierbei das im Stratum corneum nachgewiesene Enzym Arginase eine Rolle spielt ist aus der Literatur nicht ersichtlich (HOFMANN; SCHWARZ).

Für andere AS finden sich deutliche Differenzen: ILE und LEU sind im Stratum corneum um ca. 20% erhöht, im Blut dagegen vermindert. THR, SER, GLY und ALA sind im Stratum corneum nicht verändert; die Quotienten GLY/SER und VAL/GLY entsprechen der Kontrollgruppe (siehe Tab. 4.2, Tab. 4.4 und 4.6). Im Blut von Urämie-Patienten

sind durch die AS-Veränderungen der GLY/SER-Quotient und der VAL/GLY-Quotient signifikant verändert: der GLY/SER-Quotient ist von 1,5-1,6 auf 2,3-2,4 erhöht, der GLY/VAL-Quotient von 1,02 auf 2,5-3,2 (COUNAHAN; HELD; KOPPLE; ALVESTRAND 1978).

Insgesamt gesehen zeigt sich bei der Urämie-Gruppe bei einigen AS eine charakteristische Übereinstimmung zwischen Serum-AS und Hauteluat (PHE/TYR, ARG), für den überwiegenden Teil der AS aber läßt sich kein Zusammenhang darstellen.

Über die Serum-Spiegel der freien AS bei Adipositas liegen im einzelnen sehr differierende Werte vor; doch geben die meisten Untersucher an, daß eine ausgeprägte Hyperaminoacidämie bestehe. Die Verteilung der freien AS sei durch eine deutliche Verminderung von GLY, und eine signifikante Erhöhung der verzweigtkettigen AS ILE, LEU, VAL gekennzeichnet (GÖSCHKE; FELIG 1969; DEFRONZO). Diese AS-Veränderungen im Serum seien unmittelbar durch den Glucose/Insulin-Stoffwechsel beeinflussbar und durch die Resistenz der peripheren Insulinrezeptoren bedingt (FELIG 1969 u.1977; DEFRONZO).

Für die basischen AS im Serum ließen sich keine übereinstimmenden Aussagen aus der Literatur ermitteln (BÜRGER; FELIG).

Somit ist kein Vergleich zu den Hauteluat-Werten möglich. Diese zeigten bei der Adipositas-Gruppe ein sehr charakteristisches Bild im basischen Teil: eine Verminderung von NH_3 , ARG und HIS, und signifikant erhöhte ORN und UCS-Werte.

Die Gesamtkonzentration der freien AS ist, wie die Tabellen 4.2, 4.4 und 4.6 zeigen, im Stratum corneum um das ca. 1,3-fache erhöht. Diese Zunahme umfaßt neben den AS THR, SER, GLU und ASN vor allem die beiden AS

GLY und ALA. Bei den verzweigtkettigen AS ILE und LEU findet sich eine relative Verminderung von ca. 20%. Daraus folgt, daß die Hauteluatwerte für GLY, ILE und LEU im Gegensatz stehen zu den freien Serumspiegeln bei Adipositas, und die übrigen gemessenen AS keine direkte Korrelation aufweisen.

Für die Gruppen Nulldiät, parenterale Ernährung und Hay'sche Trennkost stellt der 4-wöchige katabole Stoffwechsel das gemeinsame Merkmal dar.

Bei der Gruppe Hay'sche Trennkost kam es während der 4-wöchigen Versuchsperiode nur zu einem mittleren Gewichtsverlust von 1,6 kg; ob es sich tatsächlich um eine katabole Gewebereduktion handelte oder um eine reine Ödemausschwemmung, muß offen bleiben, da eine 24h-N-Bilanzierung nicht erfolgte.

Befunde über die freien AS im Serum bei dieser Kostform konnten in der Literatur nicht gefunden werden. Wie die Tab. 4.1 bis 4.6 zeigen, veränderten sich die AS im Stratum corneum während der 4-wöchigen Diät kaum: die geringen relativen Erhöhungen von ARG, ILE und NH_3 sind nicht signifikant. Die übrigen AS und die Gesamtkonzentration blieben unverändert.

Beim ausgeprägten katabolen Fastenstoffwechsel in den Gruppen parenterale Ernährung und Nulldiät verminderte sich die Konzentration der freien AS im Hauteluat um ca. 20% (siehe Tab. 4.1). Die Reduktion betrifft in beiden Gruppen vor allem GLY, ALA und CIT, während die übrigen sauren und neutralen AS sich nicht signifikant änderten (siehe Tab. 4.3, 4.5 und 4.7). Dabei betrug der Abfall von ALA bei der Gruppe parenterale Ernährung rund 50% !

Dagegen ließ sich bei den verzweigtkettigen AS VAL, ILE und LEU ein Anstieg im Stratum corneum während des

katabolen Stoffwechsels feststellen. Bei der Nulldiät-Gruppe war dies für die AS VAL ausgeprägter, bei der anderen Gruppe für ILE und LEU.

Auf das unterschiedliche Verhalten der beiden Gruppen im basischen Chromatogrammteil wird später eingegangen. Wenn diese Befunde zu den Serumwerten der freien AS in Bezug gebracht werden, so ist selbverständlich, daß die freien AS im Serum nur einen kleinen Teil der im "Hunger"-Zustand ablaufenden Stoffwechselveränderungen widerspiegeln (HOLTMEIER). Letztere sollen kurz skizziert werden:

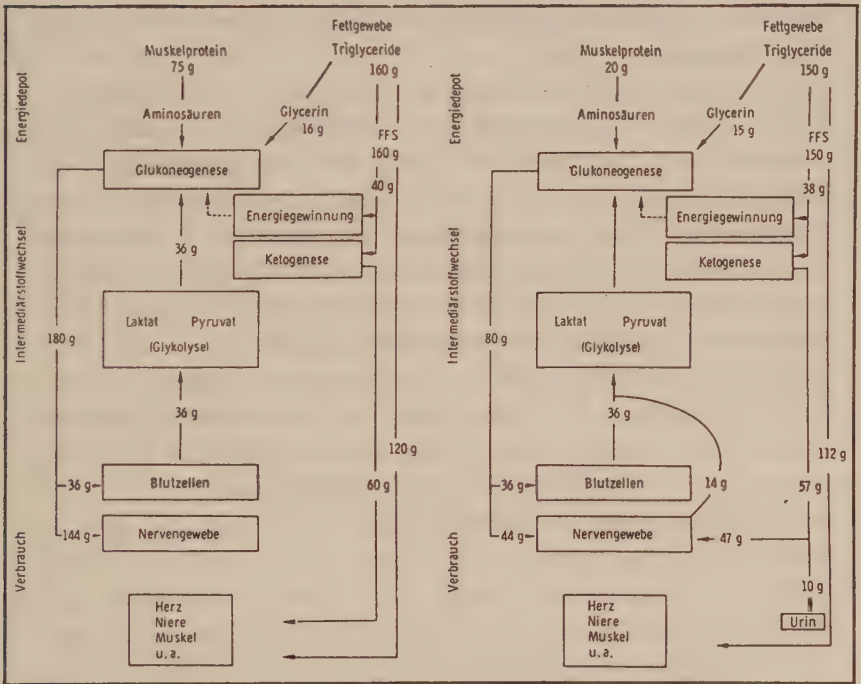
Bei längerem Hungern kommt es:

1. in den ersten Tagen zur vollständigen Ausschöpfung der Glykogenreserven (Energie-Vorrat für 1-2 Tage) in Leber und Muskel.
2. zur Verwendung von Protein als Energiedonator: es werden Proteine und AS aus dem "labilen" Pool der stoffwechselaktiven Organe (Leber, Darmmukosa etc.) und den Muskeln mobilisiert; hieraus resultieren N-Verluste bis zu 150 g binnen der ersten Woche, entsprechend ca. 1 kg Protein; danach sinkt der N-Verbrauch auf das endogene N-Bilanz-Minimum ab. Der Kalorienbedarf wird so für eine Übergangsphase für 2-7 Tage gedeckt.
3. zu gleichzeitiger Umschaltung auf anaerobe Glykolyse und vermehrte Lipolyse mit Bildung von Ketonkörpern; Herz und Gehirn stellen ihren Stoffwechsel ganz auf Ketonkörper-Verwertung um; ein intensiver Abbau der Fettdepots beginnt, die Glukoneogenese aus AS wird gemindert.
4. im weiteren Verlauf zu Reduzierung und Optimierung des Grundumsatzes, was die Gewichtsreduktion weiterhin verlangsamt (DITSCHUNEIT; CAHILL; KATZ; KLUTHE;)

Diese wesentlichen Stoffwechselumstellungen bzw.-Wege im Hungerzustand sind im folgenden Schema skizziert: (modifiziert nach CAHILL, aus CREMER).

Auf gewisse Unterschiede, z.B. im "Postaggressionsstoffwechsel" gegenüber dem "Abspeck"fasten wird nicht weiter eingegangen (KATZ; DÖLP; KLUTHE; HECKING; JÜRGENS).

Abb. 5.1: Schema der Stoffwechselumstellung beim Fasten



Stoffwechsel bei kurzem Fasten

bei längerem Hunger

Über die freien AS im Serum während einer mehrwöchigen Nulldiät bzw. mehrwöchigem katabolen Stoffwechsel liegen viele, teilweise unterschiedliche Untersuchungsergebnisse vor (FELIG; KATZ; MILLER; KLUTHE; KIENZLE; TROLL.); hierbei lassen sich für die einzelnen AS unterschiedliche Trends feststellen:

1. AS mit initial deutlich erhöhtem Serum-Spiegel sind VAL, ILE, LEU. Dies stimmt z.B. sehr gut mit den Befunden bei den Hauteluaten überein.
2. AS mit weitgehend unverändertem Serum-Spiegel: die meisten Autoren zählen CIT, TYR, PHE dazu. Im Stratum corneum dagegen vermindert sich CIT signifikant (und TYR steigt an).
3. AS mit wechselnden Serum-Spiegeln: vor allem GLY weist zunächst einen Abfall, dann einen ausgeprägten Anstieg mit langdauernd erhöhtem Serumspiegel auf (KIENZLE; KATZ). Im Gegensatz dazu imponierte bei den Hauteluaten ein ausgeprägter, bis zu 50% betragender Abfall von GLY (siehe Tab. 4.3 und 4.5). Möglicherweise korreliert der GLY-Wert im Eluat mit dem initialen Verhalten dieser AS bei Beginn des Fastens.
4. AS mit einem Abfall der Serum-Werte: hierzu werden von den sauren AS THR, SER und ALA gezählt. Diese weisen im Eluat ebenfalls eine geringe Abnahme auf und korrelieren annähernd mit den Serum-Werten.

Von den basischen AS weisen ORN, LYS, HIS und ARG im Serum einen langsamen Abfall auf. Hier finden sich im Hauteluat andere Verläufe: bei der Nulldiät-Gruppe steigt ORN verstärkt an, verringern sich NH_3 und ARG. Die Gruppe parenterale Ernährung differiert hiervon und zeigt ein Muster, das bis auf das Paar TYR/PHE mit der Urämie-Gruppe übereinstimmt (während der erste Teil des Chromatogramms gut mit der Nulldiät-Gruppe korreliert). Ob dies möglicherweise durch unterschiedliche

Gesamt-N-Bilanzen oder-Vorräte des Körpers mitbedingt wurde, muß wegen fehlender weiterer Meßdaten offen bleiben.

Interessanterweise fand SMITH unterschiedliche Serumspiegel der freien AS beim Vergleich verschiedener Gruppen mit katabolem Stoffwechsel, aber unterschiedlichem Ernährungszustand (z.B. Malnutrition gegen Nulldiät) (SMITH; ASHLEY).

Insgesamt ließen sich somit bei den Gruppen mit negativer Stickstoffbilanz (mehrwöchiger kataboler Stoffwechsel) wie bei den anderen Stoffwechselgruppen nur für einzelne AS enge Korrelationen zwischen den Serumspiegeln und Hauteluat-Werten feststellen. Für die meisten AS ließ sich keine Abhängigkeit vom jeweiligen Blutspiegel feststellen, obwohl die einzelnen Stoffwechselveränderungen typische AS-Muster in den Hauteluaten aufweisen.

Desgleichen findet sich im menschlichen Schweiß, dem zum Stratum corneum nächsten Kompartiment, ebenfalls eine von den Serum-Werten unabhängige AS-Konstellation (LIAPPIS; HUNGERLAND; HALVERSON). Die bei den verschiedenen Schweißsekretionsraten auftretenden Veränderungen lassen auch keine Korrelationen zu Veränderungen im Stratum corneum oder im Serum erkennen (SCHWARZ; LIAPPIS; SPIER; BIRNKAMMER).

Da die einzelnen AS im Stratum corneum nicht bzw. in einer im Vergleich nicht erfaßbaren Weise vom Serumspiegel der jeweiligen AS abhängen, ergibt sich als weitere Frage:

C. Sind andere Abhängigkeiten der freien AS im WL des Stratum corneums bekannt oder möglich?

Verschiedene endogene/individuelle Faktoren können die freien AS im Stratum corneum mitbeeinflussen :

1. ALTER : Mehrere Untersuchungen beschäftigten sich mit der Altersabhängigkeit der freien AS. SCHWARZ fand bei über 70-jährigen Patienten eine erhöhte AS-Konzentration, wobei GLY, ALA und VAL erhöht, CIT, THR, GLU, und HIS erniedrigt waren (SCHWARZ 1974). Ferner seien Laktat und Harnstoff stark reduziert, was die verminderte Hygroskopizität und Rissigkeit der Haut mitbedingt (SPIER u. PASCHER; SCHWARZ). Diese Befunde konnten bei anderer Alterszusammensetzung und von anderen Untersuchern nicht bestätigt werden (PRATZEL; KÜGELGEN; HERMANN; GLOOR). Für die freien AS im Blut gilt die Altersabhängigkeit als gesichert (BÜRGER, ARMSTRONG).-Bei den vorliegenden Messungen wurde zwar versucht, hinsichtlich des Alters und der Geschlechtszusammensetzung möglichst gleiche Gruppen zu erhalten (siehe Tab. 3.1); dies war aus technischen Gründen nur bedingt möglich.

Bei gruppeninternen Vergleichen zwischen den verschiedenen Altersstufen ließ sich aus unserern Meßdaten kein Hinweis auf eine Altersabhängigkeit der freien AS feststellen (unveröffentlichte Berechnungen). Die erhöhte AS-Konzentration bei der Diabetes-Gruppe scheint daher durch die Grunderkrankung bedingt zu sein; eine Vergleichsmessung mit jüngeren Probanden wäre anzustreben.

2. Geschlecht : Einen weiteren endogenen Faktor stellt das Geschlecht dar. Bei den Serumwerten der freien AS sind von mehreren Untersuchern geschlechtsspezifische Konzentrationsunterschiede festgestellt worden (OEPEN; LIAPPIS; ARMSTRONG;); diese Befunde konnten nicht immer bestätigt werden (BÜRGER; CIBA GEIGY). Was die Hautequate betrifft, konnten die meisten Untersucher keine Abhängigkeit der freien AS-Verteilung vom Geschlecht feststellen (SCHWARZ; HOFMANN;MÜLLER); von anderen Untersuchern wird dies für einzelne AS befürwortet (PRATZEL; siehe Tab. 5.1). Bei unseren Untersuchungen waren bei der Adipositas- und Nulldiät-Gruppe die weiblichen Probanden in der Überzahl (siehe Tab. 3.1). Bei der Aufteilung der einzelnen Gruppen nach Geschlecht konnte keine signifikante AS-Differenz in den jeweiligen Subgruppen gefunden werden. Die nicht ausgewogene Geschlechtsverteilung der Probanden wurde daher bei der weiteren Auswertung als vernachlässigbar eingestuft.

3. Genetischer Faktor : Wenn an der Verhornung genetische Faktoren mitbeteiligt sind, sind sie als weitere endogene Faktoren mitzuberücksichtigen. Die Verhornung stellt ein relativ altes phylogenetisches Prinzip dar; trotzdem finden sich beim Vergleich der am häufigsten untersuchten Arten Meerschweinchen, Ratte und Homo sapiens sehr große Unterschiede mit spezifischem AS-Muster (SCOTT; DALE; PRATZEL; SCHWARZ 1979). Dies spricht für eine genetische Mitregulation.

Von den in den tieferen Lagen der Epidermis als intracelluläre Filamente fungierenden α -Präkeratinen, -nach der neueren Nomenklatur nur mehr Keratin-Filamente genannt- ist seit längerem bekannt, daß sie eine sehr unterschiedliche AS-Zusammensetzung aufweisen (siehe

Tab. 5.2) (SCHWARZ; MATOLTSY; BRODY; UGEL; BADEN; FITZPATRICK; BLADON; TABACHNIK; SCOTT; LAZARIDES; SUN). Das Endprodukt Keratin stellt im reifen Korneozyten ca. 85% des Gesamtproteins. Nachdem dieses Protein ursprünglich durch seine Löslichkeit definiert wurde, ergeben nun neuere Befunde, daß es sich bei Keratin um eine Protein"familie" mit rund 19 Untereinheiten handelt. Diese werden im wesentlichen von zwei verschiedenen Genom-Familien (saure und neutrale Keratine) mit entsprechenden Untereinheiten synthetisiert (FUCHS; FRANKE; SUN; STEINERT; McGUIRE; GREEN). Damit ist eine genetische Komponente bewiesen.

Ferner scheinen bei den verschiedenen Keratinpeptiden nur Teile der Tertiär- und Quartärstruktur weitgehend einheitlich zu sein, während die Nebenketten ("random coils") entsprechend der genetischen Variabilität unterschiedlich ausfallen (SCHWARZ; BADEN; MATOLTSY; FUKUYAMA; FUCHS; SUN). Die in der Molekülstruktur begründeten Eigenschaften dieser Proteine wie Löslichkeitsverhalten und Makroaggregation könnten daher bei der Freisetzung der AS eine Rolle spielen (UGEL; SCHWARZ; BADEN).

Ein Teil der freiwerdenden AS unterliegt sofort einem weiteren Stoffwechsel, z.B. Harnstoffzyklus, Urease-Tätigkeit, Transaminierung und Transferierung. Hierbei können genetisch bedingte Enzymdefekte (mit Fehlen bestimmter Stoffwechselwege), unterschiedliche Enzymverteilung oder differierende Steady-state- Regulation die Verteilung der freien AS verändern.

Auch bestimmte Körpermerkmale, z.B. Augenfarbe und Haarfarbe, sind genetisch beeinflusst. Sie korrelieren teilweise mit einzelnen AS (PRATZEL): z.B. ist Grünäugigkeit mit einer bestimmten ARG/ORN-Relation kombiniert (MÜLLER). Trotz intensiver Bemühungen konnte aber ein "individuell-charakterisierendes" AS-Muster nicht gefunden werden (MÜLLER; HOFMANN; MAISTER; FRIES; PRATZEL, 1981).

Tab. 5.2: Zusammensetzung verschiedener, an der Keratinisierung beteiligter Kompartimente (modifiziert nach SCHWARZ 1979)

Aminosäuren	freie AS Plasma	freie AS Epidermis	Kerato-hyalin-granula	Kerato-filament	Präkera-tin (SCHWARZ)	Präkera-tin (BADEN)
ASP	1,0	5,0	15,4	9,2	5,5	10,1
THR	6,6	6,8	10,4	4,0	3,7	4,6
SER	6,3	28,2	6,0	9,1	11,9	8,8
GLU	2,6	1,0	12,0	13,	14,2	14,4
GLY	11,9	15,7	16,3	18,5	19,8	17,0
ALA	19,5	9,9	10,1	5,1	5,8	6,2
CIT	6,5	7,0	-	-	-	-
VAL	13,0	2,7	1,8	4,9	3,8	5,3
ILE	3,4	1,5	1,2	4,9	3,5	4,6
LEU	6,7	1,5	1,6	9,8	8,4	8,3
TYR	3,1	1,7	4,3	2,3	2,5	4,8
PHE	2,8	1,0	0,6	4,3	2,2	3,3
ORN	-	2,4	-	-	-	-
LYS	10,0	1,7	1,3	5,5	4,5	5,0
HIS	4,3	9,5	8,3	1,0	0,9	2,8
ARG	5,1	1,8	10,0	4,5	5,5	3,6

Neben diesen endogenen Faktoren könnten sich die AS auch gegenseitig regulieren. Daraus ergibt sich die Frage:

D. Weisen einzelne AS Korrelationen bzw. Abhängigkeiten voneinander auf?

Von der physiologischen Funktion her könnten die AS ASP, ASN und GLU am Chromatogrammbeginn eine funktionelle Einheit bilden. Zum einen stellen ASP und GLU die beiden für den Stoffwechsel wesentlichen Dicarbonsäuren dar (BUDDECKE; KARLSON); die Bedeutung dieser Dicarbonsäuren für den Stoffwechsel der übrigen AS wurde bei den Untersuchungen über eine ausgeglichene N-Bilanz bei eingeschränkter Eiweißzufuhr deutlich (KLUTHE, KATZ, DÖLP). Zum anderen sind ASP/ASN über eine Desaminase miteinander gekoppelt. Eine enge Korrelation ($r < 0,7$) zwischen den beiden AS ließen die Meßwerte nicht erkennen; der Quotient ASP/ASN schwankt bei den verschiedenen Gruppen zwischen 4,0 und 5,85.

Nach den Untersuchungen HOFMANNs soll eine negative Korrelation zwischen ASP und ALA bestehen: ASP wird durch das Enzym 4-Decarboxylase in ALA überführt (SCOTT; STÜTTGEN); aus den vorliegenden Meßergebnissen ließen sich Korrelationen von $r = 0,45$ im Mittel errechnen, und somit das Precursor-Produkt-Verhältnis nur bedingt bestätigen (HOFMANN; PRATZEL 1981).

Im übrigen weist ASP neben ORN und ARG die höchste Streuung auf (siehe Tab. 4.3-4.5). Wenn man die Hypothese aufstellt, daß dieser Varianz an sauren Äquivalenzen entsprechende basische gegenübergestellt seien, so ist sie nicht haltbar: es ließ sich weder für ASP/-ARG noch für ASP /ORN eine Korrelation auffinden.

Dagegen sind die Werte von GLU und ASN relativ konstant (Tab. 4.2-4.5); dies wird bei den erhöhten Werten der

Gruppen Adipositas und Diabetes mellitus deutlich. Die AS GLU ist im Serum und in vielen Präkeratinpeptiden höher konzentriert als ASP, während im WL des Stratum corneum ein umgekehrtes Verhältnis vorliegt (BERNSTEIN; GOLDSMITH 1983; STEINERT). Neben der bevorzugten Verwendung von GLU bei Glykoproteinen könnte die Ausbildung der "inneren Zellmembran" der Korneozyten aus Keratolinin, Involucrin und einem SH-reichen Protein (dense homogenous deposit (DHD) nach JENSEN) mit den e-(γ -GLU-)LYS-Bindungen sowie die Ausbildung der Matrixgrundsubstanz und Transglutaminasen-Aktivität der Korneozyten hierfür verantwortlich sein (GOLDSMITH; FITZPATRICK; SCHWARZ 1979; STEINERT; RICE; ODLAND). Ferner wird GLU in der Epidermis fermentativ zu Pyrrolidonsäure (PCS) umgewandelt, die bei den Versuchen nicht mitgemessen wurde. Letztere stellt mit ASP und GLU einen wesentlichen Teil des AS-Puffer-Systems der Haut dar.

Im Hinblick auf diese physiologische Funktion der AS ASP und GLU stellt sich noch die Frage, ob unter Berücksichtigung der pK-Werte unterschiedliche Pufferkapazitäten bei den verschiedenen Stoffwechselgruppen vorliegen.

Der pH-Wert der Hautoberfläche liegt bei pH 5-6; das Verhältnis Anionen/Kationen beträgt ca. 6:5,5 durch die Kombination von organischen Carbonsäuren (Milchsäure, Pyrrolidonsäure, und Urocaninsäure (UCS aus HIS)) mit NH_4^+ , anderen Basen und dem Gemisch von sauren und basischen AS (HERMANN). Im Bereich des Stratum conjunctum und der Barriere sinkt der pH auf 4,5 ab. An dieser Stelle sind überwiegend die freien AS des WL für die Pufferkapazität verantwortlich, die auf ca. 0,8 mol geschätzt wird (HERMANN, BAUER, SPIER u. PASCHER).

Bei einem pH-Wert von 4,5 sind vor allem die AS ASP mit einem pK-Wert von 2,97 und GLU mit einem pK-Wert von

3,22 (sowie UCS) wichtig; die im Chromatogramm nachfolgenden AS SER, THR, ASN, GLY, ALA, CIT, VAL, ILE, LEU und PHE weisen pK-Werte zwischen 5,68 und 6,53 auf; die pK-Werte der basischen AS liegen zwischen 7,58 (für HIS), 9,71 (für ORN) und 10,76 (für ARG) (pK-Wert-Bestimmung gemäß KARLSON, CIBA GEIGY und BECKMANN-ARCHIV).

Wenn man die Verteilung der einzelnen AS unter Zugrundelegung obiger pK-Werte und der Tab. 4.4 u. 4.5 untersucht und berechnet, so lassen sich für die einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Pufferkapazität feststellen. Es zeigt sich in keiner Gruppe eine Erhöhung basischer oder saurer Valenzen (eigene Daten; SPIER u. PASCHER).

Die nächsten AS im Chromatogramm sind SER und THR. SER kommt im WL des Stratum corneum in rund 4-fach höherer Konzentration als im Blut vor, und stellt mit rund 28 Mol% den höchsten Anteil am AS-Pool bei Gesunden. Der SER-Anteil ist bei Parakeratosen, z.B. Psoriasis, stark vermindert. Dies wird mit den fehlenden Keratohyalin granula und der veränderten Keratinisierung (fehlende Präkeratine) in Zusammenhang gebracht (SCHWARZ; GOLDSMITH; FITZPATRICK; ODLAND).

SER wird in der Epidermis synthetisiert, nach autoradiographischen Befunden vermehrt im Stratum granulosum eingebaut (FUKUYAMA), und ist mit THR in vielen Proteinen der Epidermis nachweisbar, z.B. in Sialoglykoproteinen und Präkeratinen. Umstritten ist die Existenz eines SER-reichen Proteins neben dem HIS-reichen Protein der Keratohyalin granula sowie die Freisetzung von SER und GLY in Endposition aus diesem Protein bei der Umwandlung des Filaggrin im Korneozyten (SCHWARZ 1979; BLADON; UGEL; FUKUYAMA; BRODY; ELIAS; FREEDBERG). Der hohe SER-Gehalt im WL des Stratum

corneum läßt sich aus den AS-Analysen der verschiedenen Keratinvorstufen nicht erklären.

Eine Korrelation zwischen SER und GLY wurde von mehreren Untersuchern gefunden, wobei die bekannte Relation SER/GLY von 2:1 nur bei Orthokeratose gilt (SCHWARZ 1974; SCHWARZ 1979; HOFMANN). Bei Durchsicht unserer Meßergebnisse fiel auf, daß zwischen THR und SER ebenfalls eine sehr enge Korrelation besteht: bei allen untersuchten Stoffwechsel-Gruppen fand sich ein Verhältnis THR/SER von annähernd 1:4. Die Korrelationskoeffizienten der einzelnen Gruppen lauteten:

Kontrollgruppe	$r = 0,88$	Diabetes mell.	$r = 0,69$
Urämie	$r = 0,95$	Adipositas	$r = 0,78$
Nulldiät	$r = 0,81$	Hay'sche Kost	$r = 0,84$
parenterale E.	$r = 0,99$		

Die Ursache dieser engen Korrelation muß offen bleiben, da in der Literatur kaum Angaben über spezifische Stoffwechsel-Wege und -Aufgaben von THR in der Epidermis zu finden sind (HERMANN; STÜTTGEN).

SER und THR haben einen prozentualen Anteil an den freien AS von ca. 33 %, der bei allen Gruppen konstant blieb. Generell waren im sauer/neutralen Teil des Chromatogramms (ASP, ASN, GLU, THR, SER) kaum Veränderungen der relativen Anteile bei den verschiedenen Stoffwechselstörungen festzustellen; die Konzentrationen dieser AS veränderten sich meist parallel zur Gesamt-AS-Menge.

Der zweithöchste Anteil der freien AS entfällt mit rund 16% auf GLY. Diese AS soll mit SER gekoppelt sein, da sie ebenfalls vermehrt im Stratum granulosum eingebaut wird und in manchen Proteinfractionen zusammen mit SER in einem hohen Prozentsatz nachgewiesen wird. (GOLDSMITH, KAP. 4-6) Für die Problematik der genauen Lokalisation (GLY-reiches Protein ?), Freisetzung und

Regulation mit SER wird auf die entsprechende Literatur verwiesen (BADEN; FUKUYAMA; SCHWARZ 1974 u. 1979; SPIER; HERMANN; STÜTTGEN; HOFMANN).

Bei den vorliegenden Messungen lagen die Korrelationskoeffizienten für GLY/SER zwischen 0,3 (Kontrollgruppe, Hay'sche Trennkost) und 0,78 (Urämie-Gruppe). Dieser zu früheren Untersuchungen unterschiedliche Befund könnte durch unterschiedliches Patientengut bedingt sein (FRIES; HOFMANN; PRATZEL).

Die vorliegenden Meßwerte legen eher die Vermutung nahe, daß die AS GLY, ALA (und CIT) von anderen Faktoren als SER mitbeeinflußt werden. Diese drei AS weisen einerseits bei den Stoffwechselgruppen mit erhöhten Gesamt-AS-Konzentrationen eine überproportionale 5- 10% Zunahme auf, andererseits eine überdurchschnittliche Minderung von fast 40% bei der Gruppe parenterale Ernährung (siehe Tab. 4.2 - 4.5). Auf die Probleme, die durch den Bezug der Relativverteilung auf GLY als Standard entstehen, wird später eingegangen.

Die beiden AS GLY und ALA nehmen eine zentrale "Vermittlerrolle" im Stoffwechsel ein, speziell im katabolen. Daher könnten außer der Korrelation ALA/ASP noch Korrelationen zu anderen AS diskutiert werden; es ließen sich aber bei Durchsicht der Literatur und der eigenen Befunde keine wesentlichen Abhängigkeiten ermitteln.

Eine Sonderrolle unter den AS nimmt CIT ein. Ursprünglich galt diese AS als charakteristisches "Endprodukt" der Verhornung, da sie anderweitig kaum als Proteinbaustein vorkam (SPIER; SZAKALL). Bei den jüngsten Untersuchungen zur Keratinisierung fand BUCHMANN e.a. ein Keratolinin genanntes, zytoplasmatisches Protein, das ca. 2,4% CIT enthält. Dieses Protein von ca. 36 000 Dalton spielt bei der Ausbildung

der zusätzlichen inneren Zellmembran des Korneozyten eine entscheidende Rolle. Ob der CIT-Anteil im WL des Stratum corneum daher rührt, ist noch offen (FITZPATRICK).

CIT kann ebenfalls, wie neuere Untersuchungen zeigten, im Blut ein Indikator für den N-Stoffwechsel sein (KATZ; DÖLP): bei katabolem Stoffwechsel kommt es zu einem raschen Abfall des Serum-Spiegels. Ferner sind verminderte Serumwerte bei längerem N-Mangel feststellbar (SMITH, KATZ). Hierzu liefern die vorliegenden Messungen der Hauteluat eine Ergänzung: nur bei den Gruppen mit ausgeprägtem katabolen Stoffwechsel kommt es zu einem signifikanten Abfall von CIT (bis zu 30%), während die CIT-Konzentrationen von den Stoffwechselstörungen nicht beeinflußt werden.

CIT kommt physiologischerweise im Harnstoffzyklus vor und ist mit ARG, ORN und UCS gekoppelt (KARLSON). Von mehreren Untersuchern wurden diese Korrelationen UCS-/ARG, UCS/HIS, ORN/CIT und ARG/CIT im Hauteluat bereits untersucht und diskutiert, sodaß darauf nicht mehr eingegangen wird (PRATZEL; BIRNKAMMER; SCHWARZ 1979).

Die veränderten CIT-Werte bei Parakeratosen wie Psoriasis sind auf Verschiebungen im Harnstoffzyklus -fehlende Umwandlung von HIS in UCS- zurückzuführen (STÜTTGEN; HERMANN; SCHWARZ; GRÜNEBERG).

Hinsichtlich der verzweigtkettigen, essentiellen AS VAL, ILE und LEU wurden die statistisch signifikanten Unterschiede bei den verschiedenen Stoffwechselstörungen bereits diskutiert. Bei den Gruppen mit katabolem Stoffwechsel war ein divergierendes Verhalten der drei verzweigtkettigen AS festzustellen; möglicherweise wird dies durch die unterschiedlich großen Serum-Pools dieser AS bedingt (BÜRGER; TAB. 4.5).

Aus den Tabellen 4.2 - 4.5 geht hervor, daß der ILE-Wert im Mittel kaum höher ist als der LEU-Wert. Trotz der großen Streuung der Einzelwerte war dieses Verhältnis in den meisten Fällen konstant, d.h. ILE:LEU=1:0,9. Nur bei der Urämie-Gruppe überstieg in der Hälfte der Fälle der LEU- den ILE-Wert. Hier war auch die normale Korrelation VAL:ILE:LEU=ca. 2:1:0,9 nicht mehr gegeben. Ob hierbei die unterschiedliche Inkorporationspräferenz dieser AS im Stratum basale bzw. granulosum eine Rolle spielt, muß offen bleiben (FUKUYAMA).

Die 5 teilweise essentiellen AS VAL, ILE, LEU, TYR und PHE sind für den Gesamtstoffwechsel wichtig. Ihr prozentualer Anteil im WL beträgt rund 8%. Interessanterweise ist bei allen Stoffwechselgruppen mit verminderter AS-Konzentration in der Epidermis der Anteil dieser AS-Gruppe relativ erhöht, z.B. bei der Urämie-Gruppe um 20%, nach Nulldiät um 10%, bei der parenteralen-Ernährungs-Gruppe um 25% (siehe Tab. 4.4 - 4.7). Dies könnte so interpretiert werden, daß der Organismus lange Zeit einen ausreichenden Spiegel dieser AS aufrechtzuerhalten sucht.

Erheblich größere Änderungen im Chromatogramm waren bei NH_3 zu verzeichnen. Bei dieser Meßgröße sind Veränderungen durch bakteriologische Verunreinigung der Eluatproben und basale enzymatische Prozesse bei Kühl-schranktemperaturen auszuschließen (ARMSTRONG; BÜRGER; FRIES; HOFMANN). Zeitlich gestaffelte Kontrollmessungen ergaben keinen Hinweis dafür, sodaß der unterschiedliche NH_3 -Gehalt auf die verschiedenen Stoffwechselvorgänge zurückzuführen ist: die Erhöhung von NH_3 bei der Urämie-Gruppe auf das Grundleiden, die Erhöhung bei der parenteralen Ernährungs-Gruppe auf den excessiven N-Abbau. Umgekehrt ist bei der Nulldiät ein signifikanter NH_3 -Abfall festzustellen.

Bei den basischen AS steht mengenmäßig HIS an erster Stelle mit 7,5 bis 10,5 mol% . HIS nimmt im Stoffwechsel der Epidermis eine zentrale Funktion ein: die hohen Einbauraten von HIS im Stratum basale und granulosum, das HIS-reiche Protein als Kristallisationspunkt der Keratohyalin granula bzw. des Filaggrin seien hier angeführt (FREEDBERG; SCHWARZ 1979; SZAKALL; FUKUYAMA). In der gesunden Epidermis wird HIS durch das Enzym Histidase in UCS umgewandelt (STÜTTGEN; SCHWARZ). UCS soll neben seinen hygroskopischen und Puffer-Eigenschaften vor allem eine wesentlich Schutzwirkung gegen die UV-Strahlung haben. Allerdings liegt das Absorptionsmaximum von UCS erheblich unter der Wellenlänge von UVA und UVB (HERMANN; SPIER; PRATZEL).

Die aus dem Precursor-Produkt-Verhältnis stammende Korrelation HIS/UCS wurde bereits mehrfach untersucht (HOFMANN; SCHWARZ; PRATZEL). Die Korrelation lag bei unseren Untersuchungsgruppen zwischen 0,65 und 0,85. Hierbei ist die Gleichung: $HIS + UCS = 12,5 \text{ mol\%}$ bei den Gruppen Urämie und Adipositas um rund 2 mol% in Richtung UCS verschoben; die Ursache muß offen bleiben.

Den kleinsten prozentualen Anteil von den basischen AS hat LYS. Diese AS wird nach autoradiographischen Befunden vermehrt im Stratum basale eingebaut, vermutlich in die Keratinfilamente (früher fibrilläre α -Proteine genannt), die beim Durchwandern der Epidermis zunehmend zu größeren Einheiten vernetzt werden (FUKUYAMA; UGEL; MATOLTSY; GOLDSMITH). Ferner ist LYS in den anderen, bei der Keratinisierung beteiligten Proteinen (Involucrin, Keratolinin, S-reiches Protein von JENSEN) enthalten (GOLDSMITH). Die kovalenten GLU-LYS-Bindungen (e-(γ -Glutamyl)-Lysin-Bindung) und die entsprechenden Transglutaminasenaktivität im Stratum corneum sind neben den Disulfid-Brücken wohl wesentlich für die

Festigkeit des Korneozyten mitverantwortlich. Deshalb wohl kommt LYS physiologischerweise kaum als freie AS im WL vor (SCHWARZ).

Im basischen Chromatogrammteil wurden noch die AS ARG und ORN erfaßt. Während ARG ubiquitär im Stoffwechsel anzutreffen ist und z.B. im Stratum granulosum vermehrt eingebaut wird, kommt ORN, soweit bekannt, nicht als Proteinbaustein, sondern nur im Harnstoffzyklus vor. Hinsichtlich der Korrelation ARG/ORN erbrachten die vorliegenden Messungen ein interessantes Ergebnis: bei der Kontrollgruppe ist das Verhältnis ORN/ARG ca. 1,3:1 ; bei der Adipositas-Gruppe bzw. nach Nulldiät verschiebt es sich auf ca. 5:1, während es bei der Urämie-Gruppe (und Parenterale-Gruppe) umgekehrt 1:2 beträgt! Die Korrelation der Einzelwerte ist bei den jeweiligen Gruppen mit rund 0,6 sehr hoch. Somit scheinen hier verschiedene Steady-states derselben Enzym-Reaktion vorzuliegen!

Über die Ursache des ARG-Anstiegs bei der Urämiegruppe bzw. den ARG-Abfall und regressiven ORN-Anstieg bei der Adipositasgruppe (der während der Nulldiät zunimmt) könnte nur spekuliert werden; die Relativverschiebungen sind jedenfalls die größten im gesamten erfaßten AS-Spektrum. Ob die sehr große Streuung der beiden AS ARG und ORN möglicherweise durch unterschiedliche Subpopulationen mit obigen differierenden Enzym-steady-states bedingt ist, oder meßtechnische Ursachen hat (relativ breite Peaks im Chromatogramm), kann ebenfalls nicht entschieden werden.

Insgesamt konnte bei keiner der untersuchten Stoffwechselgruppen eine wesentliche prozentuale Zunahme der Gesamtmenge an basischen AS registriert werden. Die aufgezeigten relativen, sehr großen Veränderungen im basischen Teil des Chromatogramms bedürfen aber noch

weiterer Abklärung.

Somit ließen sich verschiedene Korrelationen einzelner AS zueinander aufzeigen. Darüber hinaus wurden Relationen zu Stoffwechselparametern z.B. bei CIT punktuell erfaßt. Um das komplexe Geschehen, u.a. Interaktion mit lokalem Differenzierungsstoffwechsel, besser zu erfassen, bedarf es weiterer Untersuchungen.

Es wurde bisher dargelegt, welche physiologischen Faktoren die AS im Stratum corneum und die Ergebnisse beeinflussen können. Nachfolgend soll auf die methodischen Faktoren eingegangen werden, die die Messung der AS im Hauteluat beeinflussen.

E. Von welchen methodischen Faktoren ist die Messung der freien AS im Stratum corneum abhängig?

1. exogene Faktoren

a. Abrißstelle: die Abrißstelle spielt wegen wechselnder AS-Konzentrationen in der Haut, je nach anatomischer Lokalisation, eine wichtige Rolle (HOFMANN); daher wurden sämtliche Hautabrisse am volaren Unterarm durchgeführt.

b. physikalische Einflüsse: mechanische Faktoren, z.B. Kratzen, hygienische Faktoren, z.B. Badezusätze, physikalische Faktoren, UV-Bräunung - diese erhöht ORN, LYS, UCS und ASP um 20-30% - wurden durch die Auswahl der Probanden und Ausschluß der Patienten mit Hautbesonderheiten möglichst gering gehalten (PRATZEL). Ferner wurden die Versuchspersonen angewiesen, ihre übliche, gewohnte Körperhygiene inklusive entsprechender Kosme-

tika aufrechtzuerhalten, soweit dies bei Hospitalisation möglich ist.

c. Zeitfaktor, Temperatur: eine Streuung der freien AS im WL ist bei wechselnder Außentemperatur und Jahreszeit zu finden (MÜLLER; HOFMANN; SCHWARZ). Bei eigenen Vorversuchen ließen sich für den relevanten Untersuchungszeitraum von 4 Wochen keine wesentlichen AS-Veränderungen feststellen.

Daher dürften die zusätzlichen, nicht vermeidbaren exogenen Faktoren die Befunde nicht beeinflußt haben.

2. Meßtechnische Faktoren

a. Materialgewinnung, Stripping-Methode

Eine primäre Fehlerquelle ist die Verunreinigung des AS-Materials im Stratum corneum durch den Untersucher oder die Versuchsperson selbst. Die Enden des Tesafilmstreifens und der erste Abriß wurden zum Ausschluß von sudorigenen Verunreinigungen verworfen. Die Abnahme der Hautabrisse und die Verarbeitung der zerkleinerten Reststreifen erfolgte mit sterilen Handschuhen.

Die Stripping-Methode selbst stellt eine standardisierte Technik für die vorliegende Versuchsanordnung dar (PINKUS; SZAKALL). Bei den durchgeführten Tests wurde die Zahl der Abrisse auf 11 festgelegt; damit wird das Stratum corneum zwar nicht vollständig bis zur "Barriere" abgetragen, aber sicher keine subepitheliale Läsion mit Mikroblutung verursacht. Allerdings läßt sich auch mit einer standardisierten Zahl an Abrissen keine konstante Menge an organischem Material gewinnen (siehe Tab.4.1; ORFANOS).

Das Stripping hat ähnlich einer Wunde eine Stoffwechselaktivierung und Mitosesteigerung in diesem Hornschichtbereich zur Folge. Als erste Zeichen dafür sind steigender Glykogengehalt und vermehrte NADPH_2 und DNS-Produktion nach 12-16 h zu beobachten (KLASCHKA; ROTHBERG 1961; PRATZEL). Da die vollständige Regeneration der Epidermis längere Zeit benötigt und spezielle Stoffwechselregulationen mitbeinhaltet, wurden die Kontrollmessungen an benachbarten Arealen durchgeführt (VAN SCOTT; WEINSTEIN).

Die Durchwanderungszeit ("transit time") einer Zelle vom Stratum basale bis in die äußerste Schicht des Stratum disjunctum wird von den meisten Untersuchern mit 4 Wochen veranschlagt; die Zahlen schwanken von 14 bis 45 Tage (GOLDSMITH; CHRISTOPHERS; WEINSTEIN). Da von diesem Zeitraum wiederum die Hälfte auf das Stratum corneum entfällt, werden mit der zweiten Materialentnahme nach 4 Wochen bei unserer Meßreihe die zwischenzeitlichen Stoffwechseländerungen in jedem Fall erfaßt.

b. Probenverarbeitung und Elution

Die freien AS und die Peptide im WL der Haut sind sehr empfindlich gegenüber mikrobiellem Abbau und Verunreinigung. Die sofortige Elution wurde daher in 0,1 n HCl-Lösung bei ungefähr $+3^{\circ}\text{C}$ durchgeführt, und das gewonnene Eluat bis zur Weiterverarbeitung tiefgefroren. Diese Methode gewährleistet noch keine vollständige Ausschaltung der mikrobiellen Zersetzung und des langsamen enzymatischen Abbaus der freien AS, wie Untersuchungen an Serum-AS ergaben (ARMSTRONG). Eine Verunreinigung ginge mit einem Anstieg von Harnstoff und NH_3 einher; dies konnte bei Kontrollmessungen in keinem Fall festgestellt werden.

Die sudorigenen Verunreinigungen der obersten Stratum corneum-Schichten waren für alle Versuchsgruppen

gleich, und daher für die Versuchsanordnung vernachlässigbar (BAUER; SPIER u. PASCHER.)

Die verwandte Elutionslösung, ihr pH-Wert und die Größe des organischen Untersuchungsmaterials beeinflussen die Ergebnisse erheblich. Das unterschiedliche Lösungsverhalten der einzelnen Proteinfractionen führt in Abhängigkeit von der Elutionslösung zu sehr differierenden Befunden, wie Vergleiche früherer Publikationen zeigen (SCHWARZ 1979; MATOLTSY; PASCHER 1964). Die bei den vorliegenden Messungen verwandte Elutionslösung, 0,1 n HCl, stellt für die AS eine bewährte Lösung dar (BECKMANN-ARCHIV).

Die unterschiedliche Löslichkeit der freien AS in Abhängigkeit vom pH wird mit den verschiedenen Pufferlösungen während des Chromatogramm-Verfahrens berücksichtigt. Für die bei der Untersuchung im Vordergrund stehenden Konzentrationsänderungen ist wesentlich, daß alle Proben unter denselben Bedingungen (Konstanz der pH-Werte, konstante Raumtemperatur, keine Nikotinverunreinigung der Luft etc.) verarbeitet werden, um die Störgrößen möglichst klein zu halten. Diese Versuchskonstanz war im Labor des Instituts für Medizinische Balneologie und Klimatologie der Universität München, Klinikum Großhadern, gegeben.

c. Chromatographie

Die technischen Details des angewandten 1- und 2-Säulen-Chromatographieverfahrens sind im methodischen Teil beschrieben. Prinzipiell fand sich kein Unterschied in der Trennschärfe zwischen den beiden Systemen, sieht man von der fehlenden Meßmöglichkeit für PRO beim 1-Säulenverfahren ab.

Um eine optimale Auftrennung des Eluats zu erzielen, bedurfte es meist einer langen Einstell- und Nachjustierphase. Die Absolutmengen der zu analysierenden Hauteluat-AS lagen im pico- und nano-Mol-Bereich. Dies stellte zum Zeitpunkt der Untersuchung den Grenzbereich dieses Analyseverfahrens dar. Hinzu kommen die um den Faktor 10^2 differierenden Konzentrationsunterschiede der einzelnen AS in den Proben; dies erforderte eine äußerst exakte Trennung mit langer Einstellphase.

Es wurden ausschließlich Chromatogramme mit technisch fehlerfreiem Ablauf ausgewertet. Nach 6-8 Proben wurde ein standardisiertes Testgemisch zur Kontrolle analysiert. Zusätzlich enthielt jede Probe als "internen" Standard die AS NOR mit bekannter Konzentration, um chromatogramm-interne Fehler, z.B. wechselnde Ninhydrinempfindlichkeit, Elutionsfehler, zu erfassen.

Die Chromatogramm-Peak-Auswertung erfolgte automatisch durch das Programm CHROMA; die technischen Details und die geringe Fehlerbreite dieser Auswertung sind bereits anderweitig publiziert (PRATZEL 1972; FRIES).

Bei mehrfacher Analyse derselben Probe wurde eine Varianz von 10% ermittelt, was bei der grenzwertigen Analytik als ausreichend betrachtet werden muß. Aus den technischen Problemen zum Zeitpunkt der Messungen resultieren daher gerade bei den gering konzentrierten AS Meßungenauigkeiten, die das Auffinden signifikanter Veränderungen erschweren. Hinzu kommt die große inter- und intra-individuelle Schwankungsbreite der Meßwerte.

3. Statistische Fehler und Auswertung

Die Fehler, die durch unbeabsichtigte Falscheingabe von Daten in den Rechner bedingt sind, wurden hingenommen. Die verwandten statistischen Verfahren ,z.B. Student-t-test, sind bekannt (CIBA GEIGY; KREYSZIG).

In den Tabellen sind neben den Mittelwerten nur die Standardabweichungen aufgeführt; auf die Darstellung der Variabilitätskoeffizienten wurde der besseren Übersichtlichkeit wegen verzichtet.

Seit den ersten Messungen der freien AS im Stratum corneum stellt sich das Problem des **Bezugssystems**; auf die ausführliche Diskussion bei früheren Autoren wird verwiesen (PASCHER; SPIER; TABACHNIK; PRATZEL; FRIES; SCHWARZ; HOFMANN). Bei der Angabe von absoluten Werten muß das Bezugssystem die anatomische Lokalisation wegen der inhomogenen Tiefenverteilung der freien AS berücksichtigen; desgleichen muß es eine weitere chemisch definierte Größe beinhalten, um sinnvolle Vergleiche der Meßergebnisse zuzulassen.

Als Bezugssystem wählten viele Untersucher die Hautoberfläche (cm^{-2}) (FRIES; BAUER; PRATZEL). Die Gesamt-abrißmenge und die Tiefenausdehnung werden dadurch nicht berücksichtigt. Die Bezugsgröße Harnstoff ist wegen der Abhängigkeit von sudorigenen Einflüssen, bakteriellen Zusätzen und der Ureasetätigkeit nicht empfehlenswert.

Vielen Untersuchern diene als weiteres Bezugssystem "pro organisches Material" bzw. N^{-1} (SCHWARZ; SZAKALL; MIESCHER). Bei den vorliegenden Messungen wurde als Bezugsgröße Keratin (mg^{-1} Keratin) verwandt; der Fehler, Keratin gleich Gesamtmenge organisches Material zu setzen, wirkt sich nur gegenüber externen Meßwerten aus. Bei der Literaturdurchsicht ließen sich keine mit derselben Methode ermittelten Vergleichswerte finden.

Die für die Kontrollgruppe gemessenen Keratinwerte von rund $0,6 \text{ mg Keratin/cm}^2$ liegen um 15 bis 20% niedriger als die mit anderen Meßmethoden ermittelten Werte, z.B. $0,7 \text{ mg Keratin/cm}^2$ (PRATZEL 1981; MARCHIONINI). - Die Tab. 4.1 zeigt, daß sich bei einer identischen Anzahl von Abrissen die Gesamtmengen gewonnenen Materials bei den einzelnen Gruppen signifikant unterscheiden.

Wenn man für die verschiedenen Gruppen dieselbe Anzahl an Hornschichten annimmt - ein gegenteiliger Befund ist in der Literatur nicht zu finden (MARCHIONINI) -, so bedeutet dies, daß die Hornschichtdicke bei den verschiedenen Gruppen signifikant differiert bzw. zumindest ein sehr unterschiedlich großer Interzellularraum im Stratum corneum vorliegt. Wie einleitend dargelegt, spielt das Stratum corneum sowohl für die Resorption externer Substanzen z.B. Pharmaka als auch für die "Barriere-Wirkung", z.N. H_2O -Verlust, eine zentrale Rolle. Da im Gegensatz zu sämtlichen anderen Körpermembranen die Permeabilität der Haut nicht linear, sondern exponentiell von der Dicke abhängt (und nur das Stratum corneum entscheidend ist) (PRATZEL 1985), bedeutet dies, daß dieser Befund der unterschiedlichen Hornschichtdicke für die klinische Praxis erhebliche Auswirkungen hat. Z.B. wäre die Anwendung verschiedener Externa auf Grund der physiologischen Daten über die Permeation der Hornschicht, die Iontophorese und physikalische Bäder neu zu überprüfen (PRATZEL 1985; KLASCHKA).

Der bei der Versuchsanordnung gewählte Ansatz " mg^{-1} Keratin" ergibt somit zusätzliche Aspekte, und sollte bei weiteren Meßreihen, unter Standardisierung der Abrisse und der Fläche, beibehalten werden.

Um den aufgezeigten Schwierigkeiten zu entgehen, wird von den meisten Untersuchern die Verteilung der freien AS in prozentualen Anteilen, in sogenannten "Mol%", angegeben: hierbei wird die Gesamtmenge der freien AS gleich 100 gesetzt und der prozentuale Anteil der einzelnen AS daran berechnet. Beim Vergleich von Meßergebnissen ist zu berücksichtigen, daß manche Autoren UCS und/oder NH_3 und/oder Harnstoff in dieses Gesamtkollektiv miteinbeziehen. Dies führt zu gewissen prozentualen Verschiebungen (SCHWARZ; PASCHER; FRIES; MÜLLER). Bei den vorliegenden Messungen wurden nur die AS berücksichtigt, UCS und NH_3 anschließend anteilig an die Molsummenzahl angegeben.

Der Vergleich der Meßwerte unserer Kontrollgruppe mit denen anderer Autoren wird daher in der "Relativverteilung" durchgeführt (Tab.5.3): es findet sich eine weitgehende Übereinstimmung. Gegenüber den Befunden von HOFMANN differieren nur HIS, ARG und GLU, gegenüber SCHWARZ der CIT-Wert und die umgekehrte Relation ILE/LEU und HIS/UCS. Bei der Vergleichsgruppe von SCHWARZ sind aber überwiegend die oberflächlichsten Hornhautschabsele mitbeinhaltet (SCHWARZ; PRATZEL; HOFMANN; MÜLLER; SPIER u.PASCHER).

Tab. 5.3: Vergleich der relativen AS-Verteilung
verschiedener Autoren (MOL%)

AS	Hofmann	Schwarz	Leigene Werte
UCS	3,43	5,20	3,09
ASP	5,07	4,38	4,97
THR	6,48	7,05	6,84
SER	27,61	26,69	28,25
ASN	0,73	-	1,05
GLU	3,66	2,58	1,91
GLY	14,59	12,92	15,76
ALA	9,26	9,01	9,89
CIT	7,90	11,75	6,99
VAL	2,45	2,34	2,75
ILE	1,41	1,18	1,55
LEU	1,30	1,58	1,45
TYR	1,98	2,71	1,74
PHE	0,99	1,68	1,00
ORN	3,37	3,01	2,38
LYS	1,88	1,64	1,68
HIS	6,82	5,99	9,50
ARG	3,58	2,87	1,82

Unabhängig von den Bezugssystemen zeichnen sich die Werte der freien AS im Stratum corneum bei allen Untersuchern durch eine hohe Streubreite aus (PRATZEL). Es wurde daher wiederholt versucht, durch einen "internen" Bezugspunkt die Streubreite der Meßwerte einzuschränken. Da bei Untersuchungen mit gesunden Versuchspersonen GLY zu den AS mit der geringsten Varianz zählte, wurde sie versuchsweise in der vorliegenden Arbeit als "Standard" mitverwandt. Die Tab. 4.6 und 4.7 zeigen die Ergebnisse mit Standard GLY = 100. Auf das unerwartete Verhalten dieses "Standards" bei gewissen Stoffwechseländerungen wurde eingegangen (Tab. 4.5 und 4.7). Bei Durchsicht der Literatur konnten keine Vergleichsdaten gefunden werden. Auf andere interne Standards, z.B. VAL (VLACHOS), TYR oder ILE (PASCHER; HOFMANN) wird verwiesen (VLACHOS; PASCHER; HOFMANN).

Durch die Umwandlung der Meßdaten sollen die Befunde verschiedener Untersucher vergleichbar, die Streubreite der Meßwerte verringert und die Signifikanz verbessert werden. Um die drei **Auswertungsmethoden vergleichen und bewerten** zu können, wurden die Variabilitätskoeffizienten (VK) zu Hilfe genommen.

Der Variabilitätskoeffizient $VK = 100 \cdot s : \bar{x}$

Beispiel: Kontrollgr.SER, "Absolutwert" $186,9 \pm 58,3$ nmol

ergibt: $VK: 58,3 : 186,9 = 33,2\%$

Dieser Koeffizient läßt die Streuung bei der jeweiligen Auswertungsmethodik trotz der großen Konzentrationsunterschiede der Meßgrößen gut darstellen. Aufgegliedert nach AS, Stoffwechselgruppen und Auswertungsmethoden sind diese Werte nachfolgend in Tab. 5.4 - 5.6 aufgelistet. Im Mittel liegt bei der Auswertung nach

"Absolutwerten" das Verhältnis Standardabweichung zu Mittelwert bei $41,2 \pm 11,5 \%$, bei der Berechnung nach dem internen GLY-Standard bei $35,7 \pm 12,8\%$ und bei der Auswertung in prozentualen Anteilen (Mol%) bei $27,4 \pm 13,3\%$. Die gefundenen VK der einzelnen AS stimmen gut mit den Werten anderer Untersucher überein (SCHWARZ; HOFMANN).

Tab. 5.4: Variabilitätskoeffizient bei Auswertung in Absolutwerten (nmol/Keratin)

	Kontroll- Gruppe	Diabetes	Urämie	Adipositas	Hayfeche Kost B	Mulldiät B	Parenter.E.	$\bar{x}_m$
UCS	39,0	41,06	36,68	19,33	43,97	33,66	27,9	$34,2 \pm 8,5$
ASF	45,37	103,77	31,96	35,59	51,38	39,28	63,1	$52,4 \pm 24,7$
THR	29,96	46,79	25,17	22,18	34,19	31,06	24,01	$30,1 \pm 9,15$
SEN	33,22	48,56	25,87	18,5	41,54	25,9	35,26	$32 \pm 9,7$
ASN	45,62	51,0	31,49	31,6	39,27	46,1	66,27	$43,8 \pm 12,2$
GLU	41,94	48,28	38,86	45,9	41,0	34,5	16,58	$37,8 \pm 10,7$
GLY	32,22	46,60	52,69	26,6	51,54	32,7	42,88	$40,2 \pm 10,2$
GA	39,48	44,14	33,82	35,5	43,23	36,9	49,03	$40,0 \pm 5,6$
DIT	40,78	60,95	31,09	43,82	40,88	47,31	41,41	$43,4 \pm 8,75$
JAL	33,76	50,39	12,38	19,9	32,29	34,81	37,12	$26,7 \pm 14,8$
ILE	27,75	41,65	16,18	20,51	32,57	36,3	21,57	$27,7 \pm 9,05$
LEU	30,87	38,30	24,72	16,07	27,53	40,33	30,51	$29,2 \pm 8,17$
TYR	27,69	33,12	21,47	21,45	28,71	43,21	21,68	$27,7 \pm 8,3$
PH2	25,98	74,32	36,28	58,21	34,54	64,1	28,17	$45,7 \pm 19,2$
CH3	47,69	47,94	50,82	34,4	70,66	33,22	13,73	$42,4 \pm 17,5$
ORN	94,0	90,49	45,79	37,96	64,77	62,1	57,54	$64,6 \pm 19,5$
LVS	46,49	45,32	34,18	40,21	54,17	76,64	77,55	$53,5 \pm 15,9$
HIS	45,22	59,58	43,49	30,64	31,49	40,83	67,15	$45,5 \pm 12,6$
ARG	43,85	63,43	38,86	93,95	38,23	129,03	62,52	$67,12 \pm 31,12$
	$40,4 \pm 14,4$	$54,3 \pm 17,3$	$33,15 \pm 20,6$	$34,2 \pm 17,8$	$42,2 \pm 11,54$	$46,6 \pm 23,06$	$41,21 \pm 18,8$	$41,2 \pm 21,5$

Tab. 5.5: Variabilitätskoeffizient bei Auswertung
in Relativwerten (MOL%)

Kontroll-Gruppe	Diabetes	Urämie	Adipositas	Hay'sche Kost. B	Mulldiät	Parenter. E	$\bar{x}_m$	
UCS	26,3	26,1	40,6	23,4	32,8	39,2	19,6	29,7 ± 7,4
ASP	34,7	55,3	27,2	20,2	31,8	24,8	35,4	32,8 ± 10,5
THR	13,0	10,9	20,2	8,93	7,3	7,5	18,0	12,2 ± 4,7
SER	13,6	13,2	17,87	9,02	5,8	11,2	1,7	10,3 ± 5,4
ASN	23,8	43,0	25,53	14,52	27,5	23,4	34,0	27,4 ± 8,3
GLU	26,7	42,9	28,16	29,4	30,8	45,5	18,7	31,7 ± 8,7
GLY	13,45	27,6	37,7	10,1	13,33	12,9	14,6	18,5 ± 9,4
ALA	21,63	16,01	25,9	18,35	18,33	19,65	31,56	21,63 ± 5,0
CIT	26,85	29,17	20,89	31,4	26,96	30,12	8,59	24,8 ± 7,33
VAL	17,09	13,13	15,0	17,35	9,47	17,50	4,04	13,9 ± 5,24
ILE	10,96	13,93	18,49	11,67	8,43	14,97	15,18	13,4 ± 3,07
LEU	16,55	23,41	30,23	24,79	13,63	21,98	6,95	19,6 ± 7,2
TYR	17,81	19,10	28,96	19,16	17,36	15,03	14,8	18,8 ± 4,40
PHE	25,0	44,16	35,03	28,70	19,64	24,56	7,6	25,56 ± 10,7
NH ₃	28,30	43,81	50,33	27,36	46,56	41,51	35,5	39,04 ± 8,25
ORN	96,21	51,8	59,64	35,33	66,95	44,30	40,15	56,3 ± 19,2
LYS	50,31	45,45	29,59	29,52	62,08	70,22	24,22	44,5 ± 16,3
HIS	21,05	29,92	39,88	23,66	17,2	29,35	12,42	24,78 ± 8,5
ARG	54,44	60,15	42,63	78,09	46,4	83,33	32,93	56,9 ± 17,1
	28,3 ± 19,6	32,07 ± 15,4	31,26 ± 11,36	24,21 ± 14,8	26,30 ± 17,6	30,31 ± 19,7	19,9 ± 11,5	27,47 ± 13,27

Tab. 5.6: Variabilitätskoeffizient bei Auswertung
bezogen auf GLY (GLY%)

Kontroll- Gruppe	Diabetes	Urämie	Adipositas	Hay'sche	Mulldiät	Parenter.E	$\bar{x}_m$	
UCS	28,49	44,31	68,2	33,51	42,95	25,08	23,95	37,9 ± 14,34
ASP	34,21	66,77	49,19	25,13	33,03	38,04	38,07	40,6 ± 12,5
THR	15,38	31,15	51,90	10,67	15,03	20,94	34,49	25,6 ± 13,4
SER	17,10	32,05	52,78	17,12	10,81	16,39	14,70	23,0 ± 13,63
ASN	27,65	57,54	47,75	21,03	35,21	23,74	30,89	34,8 ± 12,3
GLU	28,19	65,72	51,32	36,81	34,50	37,18	35,10	41,3 ± 11,9
GLY	-	-	-	-	-	-	-	-
ALA	20,32	21,63	37,79	14,26	22,25	16,03	19,11	21,26 ± 7,12
CIT	30,3	37,19	29,42	27,86	33,68	25,07	12,47	28,0 ± 7,3
VAL	17,8	25,12	40,86	19,39	16,77	19,95	10,54	21,5 ± 8,8
ILE	13,3	27,27	44,09	17,61	17,63	22,02	31,69	24,8 ± 9,77
LEU	16,35	33,77	46,15	21,90	23,49	23,94	22,68	26,9 ± 9,20
TYR	16,61	25,17	47,77	34,97	23,14	30,47	31,36	29,9 ± 9,21
PHE	16,54	37,54	69,44	38,66	25,74	71,45	23,94	40,4 ± 20,2
NH ₃	34,46	35,5	68,88	26,01	0,29	32,84	13,37	31,3 ± 18,21
ORN	83,22	53,34	73,37	42,45	76,62	49,50	28,88	58,2 ± 18,51
LYS	43,10	51,92	30,51	41,08	50,39	77,98	120,0	59,3 ± 28,26
HIS	16,60	44,06	57,33	24,55	24,46	31,81	47,24	35,1 ± 13,61
ARG	51,04	67,36	67,67	62,53	47,56	106,93	50,56	64,8 ± 18,8
	28,22 ± 16,7	41,88 ± 14,56	51,83 ± 13	28,66 ± 12,23	30,0 ± 16,2	37,18 ± 23,9	32,71 ± 23,85	35,72 ± 12,8

Die Auswertung nach relativen Anteilen (Mol%) schränkt die Streubreite der Meßwerte am deutlichsten ein. Allerdings sind bei dieser Berechnungsart die prozentualen Abweichungen einer AS von den Veränderungen der anderen AS abhängig; z.B. bewirkt eine Veränderung des SER-Gehalts im Rahmen der Streubreite von $\pm 2\text{mol}\%$ automatisch eine passive Mitbeeinflussung von $\pm 10\%$ bei einer "kleinen" AS, dieselbe freie Variabilität für die einzelne AS vorausgesetzt. Umgekehrt muß bei einer AS mit geringen prozentualen Anteilen eine erhebliche Konzentrationsänderung auftreten, bis die statistische Signifikanz erreicht wird (HOFMANN; KREYSZIG).

Um diesen Nachteil der Relativverteilung auszugleichen, sollten ebenso "Absolutwerte" angegeben werden. Ob eine zusätzliche Auswertung mit einem "internen" Standard weitere wesentliche Aussagen bringt, ist zu bezweifeln. Aus den verschiedenen Tabellen (Tab. 4.2 - 4.7 und 5.4 5.6) wird die sehr unterschiedliche Streubreite der einzelnen AS deutlich. Die höchsten Standardabweichungen weisen ORN, ARG und ASP auf mit VK über 50%. Dies bedeutet, daß die Verdoppelung eines Meßwertes noch im 2s-Bereich liegen kann! Andere AS hingegen wie THR, SER, VAL und ILE weisen nur relativ kleine Standardabweichungen von 10-15% auf. Diese Schwankungsbreite der verschiedenen AS-Gruppen kongruiert nur teilweise mit der interindividuellen Variabilität (HOFMANN; PRATZEL). Daraus leitet sich ab, daß für die Freisetzung der einzelnen AS im WL des Stratum corneums die Regulation unterschiedlich verlaufen muß; dies bestätigen die vorliegenden Meßergebnisse. Trotz intensiver Bemühungen liegen bisher über die genauen Regulationsvorgänge der AS im Stratum corneum kaum Erkenntnisse vor, obwohl über den primären Prozeß der Keratinisierung zunehmend Details aufgedeckt werden (SCHWARZ 1979; FITZPATRICK; GOLDSMITH; FREEDBERG; SUN).

F. Ausblick

Die ersten Untersuchungen über freie AS im Stratum corneum von dermatologischer Seite galten den ortho- und parakeratotischen Veränderungen der Haut. Psoriasis ist beispielsweise durch verminderten Gesamtgehalt an freien AS, fehlender UCS, relativ vermindertem CIT und erhöhtem TYR gekennzeichnet (SCHWARZ). Weitere Krankheitsbilder wie Ekzeme, Parakeratosen und Genodermatosen wurden untersucht (SCHWARZ; HERMANN; STÜTTGEN). Sie ergaben von der Norm quantitativ und qualitativ verschiedene AS-Muster, wobei das Grundmuster der AS im WL annähernd gewahrt bleibt. Da die Haut auf verschiedene Reize und Noxen nur wenige, relativ standardisierte Reaktionen zeigt, führt dies bei der "Schlacke" der Verhornung, den freien AS, zu einigen Grundmustern, die keine Rückschlüsse mehr auf das auslösende Ereignis zulassen, wie dies die Untersucher ursprünglich erhofften (BRAUN-FALCO; KORTING; SCHWARZ)). Dies gilt für die bisher untersuchten Dermatosen.

Über den Einfluss von Stoffwechselstörungen auf die freien AS lagen keine genauen Befunde vor. Unsere Untersuchung zeigt, daß Stoffwechselstörungen wie Diabetes mellitus, Urämie, und Adipositas die AS-Menge und -Verteilung beeinflussen. Die Veränderungen wurden unter Berücksichtigung des allgemeinen Proteinstoffwechsels und der AS im Serum erörtert. Für weiterführende Untersuchungen käme die Erfassung anderer nutritiver oder hormoneller Faktoren in Betracht. Darüber hinaus wären Untersuchungen an Untergruppen, z.B. nur Patienten mit Diabetes mellitus Typ I, wünschenswert. Ferner ließ sich bei den vorliegenden Messungen nachweisen, daß Stoffwechseländerungen, z.B. ein extrem kataboler Stoffwechsel während 4-wöchiger Nulldiät, ebenfalls die freien AS im Stratum corneum verändern.

Dabei korreliert die Gesamtmenge der freien AS mit dem N-Stoffwechsel, was für die Rolle des Organs "Haut" als Proteinspeicher interessante Perspektiven eröffnet. Die relativen und absoluten Veränderungen der einzelnen AS wurden dargelegt. Aus den durchgeführten punktuellen Messungen (nur A/B-Wert) lassen sich noch keine Rückschlüsse dahingehend ableiten, in welcher Schicht der Epidermis die AS-Verteilung von der Stoffwechseländerung vor allem beeinflusst wird. Entsprechende Mehrfachmessungen, die zum Ausschluß lokaler und temporärer Faktoren als alternierende Doppelfeld-Abrisse durchgeführt werden müßten, könnten weitere Befunde liefern.

Ferner sollten die unterschiedlichen Keratinmengen bzw. Hornschichtdicken nochmals überprüft werden, da ausgeprägte physiologische Eigenschaften der Haut, z.B. hinsichtlich der Resorption von Medikamenten, daraus resultieren würden.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde der Einfluß von Stoffwechseländerungen und -Störungen auf die Zusammensetzung und den Gehalt an freien AS des Stratum corneum menschlicher Haut untersucht.

Die Proben wurden von insgesamt 72 Probanden durch Hornschichtabrisse an der volaren Unterarmseite gewonnen. Das Material wurde daraus mit 0,1 n HCl eluiert und der Gehalt an freien AS säulenchromatographisch bestimmt.

Bei den charakteristischen Stoffwechselstörungen fand sich gegenüber der Kontrollgruppe von 15 gesunden Probanden mit einem Gesamtgehalt von $636,7 \pm 196,2$ nmol/mg Keratin:

a. bei Diabetes mellitus (n=10)

ein signifikant höherer Gehalt von 984 ± 257 nmol/mg Keratin. Der Keratingehalt pro Flächeneinheit der Haut ist deutlich vermindert. Die prozentuale Verteilung (AS-Muster) ist nahezu identisch mit der Kontrollgruppe.

b. bei Urämie (n=10)

Die Gesamtkonzentration an freien AS ist gegenüber der Kontrollgruppe gleich, der Keratingehalt pro Fläche ist geringer. Charakteristisch erhöht sind ILE, LEU und NH_3 . Die Quotienten TYR/PHE und HIS/UCS sind durch die erhöhten Werte von PHE bzw. UCS kleiner. ARG ist signifikant höher und ORN geringer.

c. bei Adipositas (n=12)

sind die Gesamt-AS-Konzentration und besonders die Konzentrationen von GLY, SER, ASN und THR

höher als bei der Kontrollgruppe. Das Konzentrations-Verhältnis ORN/ARG ist kleiner als bei der Kontrolle.

Bei den Stoffwechseländerungen durch eine besondere Ernährung lag ein 4-wöchiger, stark kataboler Stoffwechsel vor:

d. bei Hay'scher Trennkost (n=10)

waren keine signifikanten Veränderungen des AS-Musters und des Gehalts an freien AS feststellbar.

e. bei Nulldiät (n=10)

kam es bei den adipösen Patienten während der 4-wöchigen Nulldiät zu einer mittleren Gewichtsreduktion von 9,2 kg und einer signifikanten Abnahme im Gehalt an den Gesamt-AS, vor allem bei GLY, ALA und CIT. Andererseits stieg der Gehalt an verzweigtkettigen AS, vor allem von VAL an. Bei den basischen AS blieb ARG signifikant vermindert, ORN erhöht.

f. bei parenteraler Ernährung (n=3)

war beim Postaggressionsstoffwechsel (4 Wochen Intensivstation, nur parenterale Ernährung) der Gesamtgehalt an freien AS etwa um ein Drittel gegenüber der Kontrollgruppe reduziert. Wie bei der Nulldiät-Gruppe waren vor allem GLY, ALA und CIT vermindert. Im basischen Teil entsprach das AS-Muster mehr dem der Urämie-Gruppe mit Erhöhung von ARG, UCS und NH_3 .

Insgesamt gesehen zeigt die **Gesamtkonzentration** der freien AS der Haut mit der jeweiligen Stoffwechselsituation folgenden Zusammenhang: bei katabolem Stoffwechsel trat stets eine signifikante Verminderung ein, bei Stoffwechselstörungen mit erhöhtem Eiweißangebot (Adipositas) war eine Erhöhung festzustellen. Eine ausreichende AS-Konzentration ist wesentlich für die physiologische Funktion der Haut, z.B. die Pufferkapazität.

Ferner zeigt der Keratingehalt, der wohl mit der Hornschichtdicke gleichzusetzen ist, bei den Diabetikern, Urämikern und parenteral Ernährten deutliche Unterschiede, was für die Permeabilität der Haut wichtig ist.

Die einzelnen Stoffwechselstörungen führen zu jeweils **charakteristischen Mustern** der AS-Verteilung: die sauren und neutralen AS sind in ihren prozentualen Anteilen wenig verändert; die verzweigtkettigen AS und die basischen AS differieren stärker. Beim katabolen Stoffwechsel verringern sich v.a. GLY, ALA und CIT.

Es finden sich außerdem enge Zusammenhänge zwischen dem Gehalt einzelner AS und dem **Gesamtstoffwechsel**: z.B. ist der Quotient TYR/PHE sowohl in sämtlichen Geweben als auch in den Hauteluaten bei Urämie kleiner; CIT nimmt bei katabolem Stoffwechsel im Stratum corneum und im Gewebe ab. Enge Korrelationen zu den Serum-AS-Spiegeln oder zu anderen Stoffwechselparametern ließen sich bei den übrigen AS nicht feststellen.

Es bestehen enge **Korrelationen** zwischen verschiedenen AS in der gesunden Haut wie GLY/SER, ASP/ALA, ORN/CIT und UCS/HIS. Neben diesen bekannten Korrelationen wurden weitere für $\text{THR/SER} = 1:4$ und $\text{ILE/LEU} = 1:0,9$ gefunden. Ob diese Quotienten der Ausdruck einer chemischen Reaktion sind oder durch das Verhältnis verschiedener Proteine beim Hautkatabolismus zustandekommen, ist nicht bekannt.

Insgesamt gesehen konnten durch die Stoffwechselstörungen und -änderungen deutliche und für die einzelnen untersuchten Gruppen charakteristische Veränderungen im AS-Muster des Stratum corneum der menschlichen Haut festgestellt werden.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

- Alvarez, L. C.; D. Peters; H. Murad; E. Wright; e. a.
Changes in the epidermis during prolonged fasting
Am. J. Clin. Nutr. 28, 866 (1975)
- Alvestrand, A.; J. Bergström; P. Fürst; G. Germanis;
Effect of essential amino acid supplementation on
muscle and plasma free amino acids in chronic
uremia
Kidney International 14, 323. (1978)
- Alvestrand, A. ; e. a.
Intracellular amino acids in uremia
Kidney International 24, 9 (1983)
- Armstrong, M. D.; U. Stave
A study of plasma free amino acids levels.
I. Study of factors affecting validity of
amino acids analyses
II. Normal values for children and adults
III. Variations during growth and aging
IV. Characteristic individual levels of the amino
acids
V. Correlations among the amino acids
Metabolism 22 , 549, 561, 571, 821, 827 (1973)
- Ashley, D. V.; D. Barclay; F. Chauffard ; e. a.
Plasma amino acid responses in humans to evening
meals of differing nutritional composition
Am. J. Clin. Nutr. 36, 143 (1982)
- Augustin, H. J.; A. Pust; U. Wieggers
Kinetik von Aminosäuren während Hämodialyse
Z. Urol. Nephrol. 73 , 343 (1980)

Baden, H. P.; L. Goldsmith

Changes in the α -fibrous protein during epidermal
keratinization

Acta Derm. Venerol (Stockholm) 51 , 321-326, (1971)

Baden, H. P.; L. Goldsmith; e. a.

A comparative study of the physiochemical
properties of human keratinized tissues

Biochem. Biophys. Acta 322 , 269 (1973)

Bamji, M. S.; e.a.

Biochemical Basis of the skin lesions of Vit. B2
and B6 Deficiencies, S. 99-115 in:

Roe, D.: Nutrition and the skin, Vol 10

Contemporary issues in clinical nutrition,
Liss-Verlag , New York, 1986

Bandmann H.J.;

Makroskopische Anatomie der Haut; in (Hrsg):

Korting: Dermatologie in Praxis und Klinik, Bd.I

Thieme-Verlag, Stuttgart, 1980

Bauer, H. M.

Zur Tiefenverteilung von Aminosäuren und osmotisch
wirksamen Substanzen im Stratum corneum gesunder
Versuchspersonen

Dissertation, 1971, Medizinische Fakultät
Ludwig-Maximilians-Universität München

Beckman-Archiv

Amino acid analysis of physiological fluids and
tissues, vol I und II

Beckman Publication, 1981

Bernstein, I.; L.Sibrack;

Chemical dynamics in epidermal differentiation
J. invest. Derm. 59 ,77 ,(1972)

Bernstein, I.

The protein of keratohyalin, S. 170 - 184 in:
L. Goldsmith: Biochemistry and physiology of the
skin, Vol. I, Oxford Univ. Press, 1983, New York

Betke, K; F. Lampert; K. Riegel;

Elementare Pädiatrie
Thieme-Verlag, 1974, Stuttgart

Birnkammer, F.;

Harnstoff und Citrullin in der Hornschicht
gesunder menschlicher Haut; Tiefenverteilung und
Eluierbarkeit
Dissertation, 1971, Medizinische Fakultät,
Ludwig-Maximilians-Universität München

Bladon, Ph. T.; P. Bowden; W. Cunliffe; E. Wood

Prekeratin biosynthesis in human scalp epidermis
Biochem. J. 208, 179 ,(1982)

Braun-Falco, O.; G. Plewig; H. Wolff

Dermatologie und Venerologie
Springer-Verlag, 3.Auflage, 1984, Berlin-New York

Brody, I.;

The epidermis; in: Handbuch der Haut -und Ge-
schlechtskrankheiten, Bd. I/1, Ergänzungsband,
(Hrsg.J.Jadassohn), Springer-Verlag, Berlin, 1968

- Buddecke, E. ;
 Grundriß der Biochemie
 de Gruyter-Verlag, 5.Auflage, 1980,Berlin-New York
- Bullough, W. S.; E. Laurence
 The production of epidermal cells.
 Symp. Zool. Soc. Lond. 12 ,1-23 (1964)
- Bullough, W. S.; e.a.
 The vertebrate epidermal chalone
 Nature 214 , 578 (1967)
- Bürger, U. ;
 Untersuchungen über die Verwertung parenteral
 zugeführter Aminosäuren
 Klinische Ernährung, Bd. 13, (Herausgeber: F.
 Ahnefeld e.a.), W. Zuckschwerdt-Verlag 1985
- Buxman, M. M.; K. Wuepper;
 Cellular localization of epidermal transgluta-
 minase: a histochemical and immunochemical study
 J. Histochem. Cytochem. 26 , 340 (1978)
- Cahill, G. F. ;
 Ketosis
 Kidney International 20, 416-425, (1980)
- Carlsten, A.; B. Hallgren; R. Jagenburg; A. Svanborg;
 Amino acids and free fatty acids in plasma in
 diabetes: I. The effect of insulin on the arterial
 levels
 Acta Med. Scand. 179 ,361, (1966)

Christophers, E.;

Epidermopoese und Keratinisation. In:(Hrsg.)
Korting: Dermatologie in Praxis und Klinik, Bd.I
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1980

Christophers, E.;H. Wolff; E. Laurence

The formation of epidermal cell columns
J.invest. Derm. 62 ,555-559 (1974)

CIBA-GEIGY

Wissenschaftliche Tabellen (Redaktion: K.Diem)
CIBA-GEIGY, Basel, 7.Auflage ,1971

Cremer, H.D.; D. Hötzel; J. Kühnau

Biochemie und Physiologie der Ernährung
Bd. I,Teil 2 in : Cremer, H.; Heilmeyer L. e.a.:
(Handbuch für) Ernährungslehre und Diätetik;
Thieme-Verlag, 1980, Stuttgart

Counahan, R.; M. El.Bishti; B. Cox; Ch. Ogg; e. a.

Plasma amino acids in children and adolescents on
hemodialysis
Kidney International 10 , 471-477 ,(1976)

Dale, B.a.; e.a.

Identification of filaggrin in cultured mouse
keratinocytes and its regulation by calcium
J. Invest. Dermatol. 81 (suppl.) 90s ,(1983)

Danks, D. M.;

Copper deficiency and the skin. S 1102 -1112 in:
Goldsmith, L.: Biochemistry and physiology of the
skin, vol. I, Oxford Univ. Press, 1983

DeFronzo, R. A.; P. Felig

Amino acid metabolism in uremia: insights gained
from normal and diabetic man

Am. J. Clin. Nutr. 33 , 1378-1386 ,(1980)

Ditschuneit, H.; J. Faulhaber; I. Beil; e.a.

Veränderungen des Stoffwechsels bei Nulldiät
Internist 11 ,176 , (1970)

Doi, Y.; A. Kataura

Free amino acids in human tonsillar tissue

Clin. Chem. 21, 414, (1975)

Dölz, R.; W. Fekl; F. Ahnefeld

Free amino acids in plasma in the
post-traumatic-period

Infusionstherapie 2 ,321-324 ,(1975)

Elias, P. M.;

Epidermal lipids, barrier function and
desquamation

J. Invest. Dermatol. 80 (suppl.) 44s , (1983)

Elias, P.M.;

The special role of the stratum corneum. S.342

in: Fitzpatrick, Th. e.a.: Dermatology in General

Medicine; vol. I Mc Graw Hill Book, 1987, New York

Felig, Ph.; O. Owen; J. Wahren; G. Cahill

Amino acid metabolism during prolonged starvation

J. Clin. Invest. 48 ,584 ,(1969)

Felig, Ph.; E. Marliss; J. Ohman; G. Cahill

Plasma amino acid levels in diabetic ketoacidosis

Diabetes 19 ,727 , (1970)

Felig, Ph.; J. Wahren; R. Sherwin; G. Palaialogos
Amino acid and protein metabolism in diabetes
mellitus
Arch. Intern. Med. 137 ,507 (1977)

Ferreira-Marques, J.;
Beitrag zur Kenntnis der Biologie der Epidermis:
Stratum oxybioticum und Stratum anoxybioticum
Rev. argent. Derm. 44 ,87 ,(1960)

Fitzpatrick, T. B.; A. Eisen; K. Wolff; e.a.
Dermatology in General Medicine, vol. I and II
3.Auflage, Mc Graw-Hill Book, 1987, New York

Fleischmajer, R.; G. Faludi;
A study of carbohydrate metabolism in scleroderma
J. invest. Derm. 52 , 326 ,(1969)

Fräki, J. E; G. Lazarus; V. Hopsu-Havu
Protein Catabolism in the Skin. S. 338 in
Goldsmith, L.: Biochemistry and Physiology of the
skin. Vol I, Oxford Univ. Press, 1983

Franke, W.W.; A. Weber e.a.
Identification and characterization of epithelial
cells in mammalian tissues by immunofluorescence
microscopy using antibodies to prekeratin
Differentiation 15 , 7 , (1979)

Freedberg, I. M.;
Epidermal differentiation and keratinization.
S.174 in: Fitzpatrick, Th. e.a.: Dermatology in
General Medicine. Vol I. Mc.Graw-Hill Book, 1987,
New York

Freinkel,, R.; K. Aso;

Esterification of cholesterol by epidermis
Biochem. Biophys. Acta 239 ,98-102 ,(1971)

Freinkel, R.;

Carbohydrate Metabolism of the Epidermis. S.328
in: Goldsmith. L.: Biochemistry and Physiology of
the skin, Vol I, Oxford Univ. Press, 1983

Fries, P.;

Untersuchungen über den Einfluß der UV-Strahlung
auf den Gehalt an freien Aminosäuren in der
menschlichen Hornschicht
Dissertation, 1978 ,Medizinische Fakultät,
Ludwig-Maximilians-Universität München

Frithiof, L.;

Ultrastructural changes in the plasma membrane in
human oral epithelium
J. ultrastruct. res. 32 , 1 -17 , (1970)

Fuchs, E.; H. Green;

Regulation of terminal differentiation of cultured
human keratinocytes by vitamin A.
Cell 25 ,617 , (1981)

Fürst, P.; M. Ahlberg; A. Alvesstrand; J. Bergström

Principles of essential amino acid therapy in
uremia
Am. J. Clin. Nutr. 31 , 1744-1755 , (1978)

Fürst, P.; A. Alvesstrand; J. Bergström

Effects of nutrition and catabolic stress on
intracellular amino acid pool in uremia
Am. J. Clin. Nutr. 33 ,1387-1395 ,(1980)

- Fukuyama, K.; W. Epstein;
Heterogeneous proteins in keratohyaline granules
studied by quantitative autoradiography
J. invest. Derm. 65 , 113 ,(1975)
- Fukuyama, K.; W. Epstein;
Protein synthesis studied by autoradiography in
the epidermis of different species
Amer. J. Anat. 122 ,269-273 (1968)
- McGale, E.; I. Pye; R. Corston; C. Stornier; e. a.
The effect of haemodialysis on cerebrospinal fluid
and plasma amino acids
Clin. Chim. Acta 92 , 73-80 ,(1979)
- Gilchrest, B.;
Age-associated changes in the skin
J. Amer. Geriat. Soc. 30 ,139 ,(1982)
- Gilmartin, M., E.; T. Tezuka; I. Freedberg
Products of epidermal protein synthesis
Acta Dermatovener 55 ,273-281 ,(1975)
- Gloor, M.; V. Marckardt; H. Friederich
Biochemical and physiological particularities on
the skin surface of diabetes
Arch. Derm. Res. 253 , 185-194, (1975)
- Gloor, M.; M.Kionke; R.Strack; H.Friederich;
Untersuchungen über einen Zusammenhang zwischen
Menge und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide
Fortschr. Med. 90 ,1271 u.1278, (1972)

- Göschke, H.; J. Girard; M. Stahl
 Der Stoffwechsel bei vollständigem Fasten. Unterschiedliches Verhalten bei Männern und Frauen sowie bei Normalpersonen und Adipösen
 Klin. Wschr. 54 ,527-533 ,(1976)
- Goldsmith, L.; H. Baden;
 Uniquely oriented epidermal lipid.
 Nature 225 ,1052 ,(1970)
- Goldsmith, L.A.;
 Biochemistry and Physiology of the Skin. Vol.I +II
 Oxford University Press, 1983, New York
- Green, h.;
 The keratinocyte as differentiated cell type.
 Harvey Lect. 74 ,101 ,1980
- Grüneberg, T.; A. Szakall;
 Über den Gehalt an Schwefel und wasserlöslichen Bestandteilen in der verhornten Epidermis bei normaler und pathologischer Verhornung
 Arch. klin. exp. Derm. 201 ,361 ,(1955)
- Mc.Guire, J.S.; L. Milstone;
 A comparison of the abundance of keratin peptides in different levels of calf hoof epithelium
 J. invest. Dermatol. 72 ,198 ,(1979)
- Gulyassy, P. F.; A. Aviram; J. Peters
 Evaluation of amino acid and protein requirements in chronic uremia
 Arch. Intern. Med. 126 , 855 ,(1970)

- Hadorn, B.; F. Hanimann; R. Halverson; e. a.
Free amino-acids in human sweat from different
parts of the body
Nature ,215 ,416 ,(1967)
- Halprin, K.; A.Ohkawara; K. Adachi
Glucose entry into the human epidermis: I.The
concentration of glucose in the human epidermis
J. invest. Derm. 49 ,559 ,(1967)
- Halverson, R.; B. Hadorn; F. Hanimann e.a.
Free Amino acids in human sweat from different
parts of the body
Nature 215 ,416 -418 ,(1967)
- Hecking, E.; M. Dörr; H. Mader; Z. Miladinovic; e. a.
Der Ersatz dialysebedingter Verluste von
Aminosäuren
Klin. Anästhesie Intensivth. , 140-150 ,1977,
Springer-Verlag
- Held, E.; W. Winkelmann; K. Finke; H. v. Dehn; e. a.
Plasma-Aminosäuren bei chronischer
Niereninsuffizienz
Klin. Wschr. 52 , 974-978 ,(1974)
- Hermann, F.; H. Ippen; H. Schaefer; G. Stüttgen
Biochemie der Haut
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1973
- Hilding, A. C.; E. Cowles; J. Hilding-Stuart
Amino acid composition of human nasal mucus
Ann. Otol. 82 , 75-79 ,(1973)

Hofmann, J.A.;

Die relative Konzentration der freien Aminosäuren
des stratum corneum der gesunden menschlichen Haut
(Zur Frage der individuellen Variabilität)
Dissertation, 1979, Medizinische Fakultät,
Ludwig-Maximilians-Universität München

Holtmeier, H.J.;

Allgemeine und spezielle klinische Ernährungslehre
Bd. II, Teil 2, (Handbuch für) Ernährungslehre und
Diätetik. Thieme-Verlag, 1972, Stuttgart

Hungerland, H.; N. Liappis

Verhalten der essentiellen Aminosäuren im
menschlichen Schweiß
Klin. Wschr. 50 ,973-976 ,(1972)

Jarrett, A.;

The epidermis; in: The physiology and
pathophysiology of the skin.
Academic press, London -New York, 1973

Jürgens, P.

Der postoperative Stoffwechsel
Infusionstherapie 9 ,74-85 ,(1982)

Karlson, P.;

Kurzes Lehrbuch der Biochemie
Thieme-Verlag, Stuttgart, 10.Auflage, 1980

Katz, N. R.; A. Keck; R. Kluthe

Verhalten von Aminosäuren im Serum und Urin
Normalgewichtiger während absoluter Nahrungskarenz
Akt. Ernährung 2 ,62-65 ,(1977)

Kienzle, P.;

Die freien Aminosäuren im Serum während 4wöchiger
Nulldiät

Vortrag,:Überlinger Stoffwechseltage, 3.5.1985, in
Druck

Klaschka, F.;

Stratum corneum - Struktur und Funktion

Grosse-Verlag, 1981 , Berlin

Kluthe, R.; F. Lüttgen; T. Capetianu; V. Heinze; e.a.

Protein requirements in maintenance hemodialysis

Am. J. Clin. Nutr. 31 , 1812-1820 ,(1978)

Kopple, J. D.; M. Swendseid; J. Shinaberger;

The free and bound amino acids removed by
hemodialysis

Trans.Amer. Soc. Artif. Int. Organs 19,309 (1973)

Kopple, J. D.;

Abnormal amino acid and protein metabolism in
uremia

Kidney International 14 ,340-348 ,(1978)

Korting G.W.;

Dermatologie in Praxis und Klinik

Bd. I :Allgemeine Dermatologie

Thieme-Verlag, 1980 ,Stuttgart New York

Kreyszig, E.;

Statistische Methoden und ihre Anwendungen

Vandenhoeck u.Ruprecht-Verlag, Göttingen, 4.Aufl.,
1973

Kügelgen, H. von; E. Schwarz;

Zur Frage von Altersveränderungen der
Hautoberfläche

Arch. Derm. Forsch. 248 ,355 -360 (1974)

Lampe, M.A.; e.a.

Human epidermal lipids : characterization and
modulations during differentiation

J. Lipid Res. 24 ,131 ,(1983)

Lazarides, E.;

Intermediate filaments - chemical heterogeneity in
differentiation

Cell 23 ,649 ,(1981)

Leonhardi, G.; L. Aderhold; K. Fischer

Untersuchungen über Mengen und Zusammensetzung der
Hautoberflächenlipide

Dissertationen, 1977/78; zitiert in:

Korting: Dermatologie in Klinik und Praxis, Bd. I

Thieme-Verlag, Stuttgart, 1980

Leonhardi, G.; J. Glaserapp; G. Brühl

Die freien Aminosäuren der menschlichen Haut

Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 292 ,89 ,(1953)

Liappis, N.

Geschlechtsspezifische Unterschiede der freien
Aminosäuren im Serum von Erwachsenen

Z. klin. Chem. klin. Biochem. 10,132 ,(1972)

Locher, G.;

Permeabilitätsprüfung der Haut Ekzemkranker und
Hautgesunder für den neuen Indikator Nitrazingelb,
Modifizierung der Alkaliresistenzprobe, pH-verlauf
in der Tiefe des Stratum corneum
Dermatologica (Basel) 124 ,159 ,(1962)

Lohmann, D.;

Der Einfluß des Kohlenhydratstoffwechsels auf den
Aminosäurenstoffwechsel beim Diabetes mellitus
Dtsch. Arch. klin. Med. 205 ,488-494 ,(1959)

Maister, H.;

Zur Beziehung von bestimmten genetisch festgeleg-
ten Merkmalen zu freien Aminosäuren in der Horn-
schicht der menschlichen Haut
Dissertation, 1977 ,Medizinische Fakultät,
Ludwig-Maximilians-Universität München

Marchionini, A.;

Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten
Bd. I-V inclus. Ergänzungsbänden; Springer-Verlag;
1962-1970, Berlin

Matoltsy, A.G.; P.Parakkal;

Membrane-coating granules of keratinizing
epithelia
J. Cell Biol. 24 ,297 ,(1965)

Matoltsy, A.G.;

Keratinization
J. invest. Derm. 67 , 20 ,(1976)

- Metcoff, J.; S. Dutta; G. Burns; J- Pederson; e. a.
Effects of amino acid infusions on cell metabolism
in hemodialyzed patients with uremia
Kidney International 24, Suppl. 16 ,S87-92 ,(1983)
- Miescher, G.
Die Haut als Organ der Abwehr
Hautarzt 8 , 88-93 ,(1957)
- Miller, B.; H. Knauff; G. Mayer; W. Scholl
Das Verhalten der Plasmaamino-säuren bei
parenteraler Ernährung mit verschiedenen
Aminosäurelösungen
Res. exp. Med. 162 ,109-124 ,(1974)
- Müller, W.;
Aminosäurekonzentrationen in der Hornschicht und
deren Beziehungen zu exogenen und endogenen
Faktoren
Dissertation, 1973 ,Medizinische Fakultät
Ludwig-Maximilians-Universität München
- Neldner, K. H.; L. Hagler, e.a.
The Biochemistry and physiology of zinc metabolism
Arch. Dermatol. 110 ,711 -721 ,(1974)
- Newbold, P.;
The skin in genetically-controlled metabolic
disorders
J. Med. Gen. 10, 101 , (1974)
- Odland, G.F.;
Structure of the skin; S. 3-63 in :
Goldsmith, L.: Biochemistry and physiology of the
skin; vol I and II, Oxford University Press, 1983

- Oepen, H.; I. Oepen
Geschlechtsspezifische Konzentrationsunterschiede
der Serum-Aminosäuren
Klin. Wschr. 43 ,211 , (1965)
- Orfanos, E.;
Aufbau der Hornschicht im Hinblick auf ihre
Funktion. In. (Hrsg.) F.Klaschka: Stratum corneum-
Struktur u.Funktion.Grosse-verlag, Berlin, 1981
- Peter, G.; H.Angst; U.Koch;
Biochemische Aspekte des Aminosäuren-Stoffwechsels
bei Psoriasis vulgaris
Z. Naturforsch. 28c ,446 ,(1973)
- Peterka,E.; R.Fusaro;
Cutaneous carbohydrate studies:IV.The skin glucose
content of fasting diabetics with and without
infection
J. invest. Derm. 46 ,459 ,(1966)
- Peterson, L.L.; e.a.
Biochemistry of transglutaminases and
cross-linking in the skin.
J. Invest. Dermatol. 81 (suppl.) 95s (1983)
- Pinkus, H.;
Examination of the epidermis by the strip method
J. Inveset. Dermatol. 19, 431 ,(1952)
- Pinkus, H.;
Die makroskopische Anatomie der Haut. In: Handbuch
der Haut- und Geschlechtskrankheiten.
Ergänzungswerk. Bd.I/2 .(Herausgeber: A.
Marchionini) Springer-Verlag, Berlin , 1964

Plewig, G.;A. Kligman

Zellkinetische Untersuchungen bei
Kopfschuppenerkrankungen
Arch, klin. exp. Derm. 236 ,406 (1970)

Pratzel, H.;

Biochemische Vorgänge an der menschlichen
Oberfläche.
Dissertation, Technische Universität München, 1969

Pratzel, H.;

Parametrische Auswertung unvollständiger chromatographischer Trennungen mit dem Fortran-Programm CHROMA nach einer Bi-GaussApproximation
Z. Anal. Chem. 261 ,369 -376, (1972)

Pratzel, H.;

Der Histidinstoffwechsel in der Verhornungszone
Vortrag, Doktorandenseminar, 1979,
Ludwig-Maximilians-Universität München

Pratzel, H.;

Verteilungsmuster der freien Aminosäuren der
Hornschicht von hautgesunden Personengruppen,
aufgeteilt nach verschiedenen Merkmalen.
In: F.Klaschka (Hrsg.):Stratum corneum -Struktur
und Funktion. Grosse-Verlag, 1981 ,Berlin

Pratzel,H.;

Grundlagen des perkutanen Stofftransports in der
Pharmako-Physiko-Therapie und Balneotherapie
Habilitationsschrift, 1985, Medizinische Fakultät,
Ludwig-Maximilians-Universität München

Rice, R. H.; H. Green;

Presence in human epidermal cells of a soluble protein precursor of the cross-linked envelope: activating of the cross-linking by calcium ions.
Cell 18 ,681 ,(1979)

Roberts, E.; S.Frankel

The source of amino acid-pattern in epidermis
Cancer Res. 9 , 350 ,(1949)

Rodermund, O.E.;

Zur Verteilung von Plasmaproteinen in Blut und Haut
Arch. klin. exp. Derm. 237 ,684-689 ,(1970)

Roe, D.A.;

Contemporary issues in clinical nutrition.
Vol. 10: Nutrition and the skin.
Alan-Liss-Inc., 1986 , New York

Rogers, G.;

Occurence of citrulline in proteins
Nature 194 ,1149 , (1962)

Rogers, G.;

The structure and biochemistry of keratin.
In:(Hrsg.)W.Montagna :The epidermis
Academic Press, London New York ,1964

Rothberg, S.; E. van Scott;

Evaluation of arginase activity in normal epidermis tissue and pathological stratum corneum
J. invest. Derm. 31 ,263-268 ,(1958)

Rothberg, S.; e.a.

Glycine -C ¹⁴ incorporation into the proteins of
normal stratum corneum and the abnormal stratum
corneum of psoriasis

J. Invest. Dermatol. 37 ,497 ,(1961)

Rothman, S.; M.Sullivan;

Amino acids on the normal human skin surface

J. invest. Derm. 13 ,319-321 ,(1949)

Rothman, S.;

Physiology and biochemistry of the skin.

University Press, Chicago, 1954

Rupec,M.; O. Braun-Falco;

Zur Ultrastruktur und Genese der intracytoplas-
matischen Körperchen in normaler menschlicher
Epidermis

Arch. klin. exp. Derm. 221 ,184 -193 ,(1965)

Rupec ,M.;

Mikroskopische und elektronenmikroskopische
Anatomie der Haut. In: (Hrsg.)Korting:Allgemeine
Dermatologie (Bd. I, Dermatologie in Praxis
u.Klinik), Thieme-Verlag, Stuttgart, 1980

Ruzicka, J.; M.Kalab; Z.Matlocha

Vergleich des Spektrums der löslichen Proteine im
stratum corneum und im Blutserum mit Hilfe der
Disk-Elektrophorese

Arch. klin. exp. Derm. 230 ,195 ,(1967)

Sandritter, W.;

Histopathologie

Schattauer Verlag, Stuttgart,4.Aufl. ,1971

Schumann, J.;

Grundsätzliche Betrachtungen zur parenteralen
Ernährung
Krankenhausarzt 52 ,665-667 (1979)

Schwarz, E.;

Freie Aminosäuren und Harnstoff in psoriatischen
und normalen, epidermalen Verhornungsprodukten
Arch. klin. exp. Derm. 225 ,299-305 ,(1966)

Schwarz, E.;

Klinisch-chemische Analyse von menschlicher
Hautoberfläche
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 5 ,247-251 (1967)

Schwarz, E.;

Zum Schicksal der aus Nucleinsäuren beim Zellabbau
während der epidermalen Verhornung freiwerdenden
Pyrimidine
Arch. klin. exp. Derm. 230 ,437 ,(1967)

Schwarz, E.; W.Thies; G. Kloss

Freie Aminosäuren in Ichthyosisschuppen und in
Callus
Arch. klin. exp. Derm. 235 ,43 ,(1969)

Schwarz, E.;

Biochemische Stigmata menschlicher Hautoberfläche
im Alter
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 12 ,93-97 ,(1974)

Schwarz, E.

Biochemie der epidermalen Keratinisation.
Grundzüge der pathologischen Verhornung

In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten.
Ergänzungswerk Bd. I/4, Teil A S. 1-120 ,(Heraus-
geber :A. Marchionini) Springer-Verlag , 1979

Scolari, M. P.; S. Stefoni; G. Mosconi; L. Coli; e. a.

Effects of renal substitutive programs on amino
acid patterns in chronic uremia

Kidney International 24,Suppl. 16 ,S77-80 ,(1983)

Scott, J. R.; Cl. Harding; J. Barrett;

Histidine-rich protein of the keratohyalin
granules: source of the free amino acids, urocanic
acid and pyrrolidone carboxylic acid in the
stratum corneum

Biochim. Biophys. Acta 719 ,110-117 ,(1982)

Sheretz, E.F.; L.A.Goldsmith;

Nutritional influences on the skin. S.1069-1082
in:Goldsmith, L.: Biochemistry and Physiology of
the skin. Vol. I . Oxford Univ. Press, 1983

Silbert, J.E.;

Biosynthesis of mucopolysaccharides and protein
polysaccharides .S.323 in:

Tamayo, R.e.a.: Molecular Pathology of Connective
Tissues, Marcel Dekker, 1973, New York

Smith, St.; T. Pozefsky; e. a.

Nitrogen and amino acid metabolism in adults with
protein-caloric malnutrition

Metabolism 23 ,603-618 ,(1974)

- Spier, H. W.; G. Pascher
 Physiologie der Hautoberfläche
 Akt. Probl. Derm. 1 , 1-46 (1959)
- Spier, H. W.; G. Pascher;
 Die wasserlöslichen Bestandteile der peripheren
 Hornschicht (Hautoberfläche).Quantitative Analysen
 Arch. klin. exp. Derm. 209 ,181-193 (1959)
- Spier, H.W.;
 Physiologie der epidermalen Verhornung
 (Biochemische Grundprobleme derselben)
 Arch. klin. exp. Derm. 215 ,568 -571 (1964)
- Steinberg, D.; J. Herndon; B. Uhlendorf e.a.
 Refsum's disease: nature of the enzyme defect.
 Science 156 ,1740-1742 ,((1967)
- Steinert, P. M.; e.a.
 Characterization of the keratin filament subunits
 unique to bovine epidermis
 Biochem. J. 187 , 913 ,(1980)
- Stüpel, H.; A.Szakall;
 Die Wirkung von Waschmitteln auf die Haut
 Dr. Hüthig Verlag, Heidelberg ,1957
- Stüttgen, G.; H. Schaefer
 Funktionelle Dermatologie
 Springer-Verlag ,Berlin Heidelberg New York 1974

Sun, T. T.; H. Green; e.a.

Classification, expression, and possible mechanisms of evolution of mammalian epithelial keratins. S. 169 in: Levine, A.: Cancer Cells, Vol. I. Cold Spring Harbor Lab. 1984, New York

Szakall, A.;

Über die Eigenschaften, Herkunft und physiologischen Funktionen der die H-Ionenkonzentration bestimmenden Wirkstoffe in der verhornten Epidermis

Arch. klin. exp. Dermatologie 201, 331-360 (1955)

Tabachnik, J.; J. Perlsh :

Studies on the biochemistry of epidermis.III. Content and some characteristics of 5'-nucleotidases, pyrophosphatases and -esterases of albino guinea pig and rat epidermis

J. invest. Dermatol. 48, 587-594, (1967)

IV: The free amino acids, ammonia, urea and pyrrolidone carboxylic acid content

J. invest. Dermatol. 54, 24-31, (1970)

Thiele, K.;

Diskussionsbemerkung in : (Hrsg.

F.Klaschka): Stratum corneum- Struktur und Funktion
Grosse-verlag, Berlin, 1981

Tizianello, A.; G. de Ferrari; G. Garibotto; e. a.

Renal metabolism of amino acids and ammonia in subjects with normal renal function and in patients with chronic renal insufficiency

J. Clin. Invest. 65, 1162-1173, (1980)

- Troll, U.; G. Kessler; G. Schöntag
 Aminosäuren in der parenteralen Ernährung
 I .Zur Normalverteilung der Serum-aminosäuren
 Stoffwechselgesunder
 Infusionstherapie 5 ,66-68, (1978)
- Tromovitch, T.; P.Jacobs; S.Kern;
 Acanthosis nigricans-like lesions from nicotinic
 acid.
 Arch. dermat. Forsch. 89 ,222 ,(1964)
- Ugel, A.R.;
 Keratohyalin
 Int. J. Derm. 16 ,1 - 11 (1977)
- Van Scott, E.J.; e.a.
 Replacement kinetics of integumental epithelia.
 S.169 in: Lyne, A.: Biology of the Skin and Hair
 Growth. Angus and Robertson, 1965, Sydney
- Vlachos, G.;
 Zur Verteilung der freien Aminosäuren in der
 menschlichen Hornschicht
 Dissertation, 1970, Medizinische Fakultät,
 Ludwig-Maximilians-Universität München
- Walb, L; Walb, I.;
 Die Hay'sche Trennkost
 Karl F. Haug-Verlag, Heidelberg, 30.Aufl.,1978
- Watt, F. M. ; H. Green;
 Stratification and terminal differentiation of
 cultured epidermal cells.
 Nature 295 , 434 , (1982)

Weidler, B.; A. Schmolinsky

Plasmaamino-säurenwerte unter postoperativer
parenteraler Ernährung mit einer Komplettlösung
Infusionstherapie 7 ,157-163 ,(1980)

Weinstein, G.D.; E. Van Scott;

Autoradiographic analysis of turnover times of
normal and psoriatic epidermis
J. invest. Derm. 45 ,257 ,(1965)

Weinstein, G. D.; P. Frost;

Abnormal cell proliferation in psoriasis.
J. invest. Dermatol. 50 ,224 (1968)

Weinstein, G. D.;

Epidermal cell kinetics. S. 154 -169 in:
Fitzpatrickm T. e.a.: Dermatology in General
Medicine . Vol.I Mc-Graw-Hill Book, 1987, New York

Wheatley, V.; P. Flesch;

Horny layer lipids.II.Further studies on the
overall chemical composition of lipids from normal
and pathological human stratum corneum
J. invest. Derm. 49 ,198 ,(1967)

Winkelman, R.; H.Perry; R.Achor; T.Kirby

Cutaneous syndromes produced as side effects of
triparanol therapy
Arch. Derm. 87 ,373-377 ,(1963)

Yardley, H.J ;

Sterols and keratinisation
Br. J. Derm. 81 ,29 -31 .(1969)

Yardley, H. J.; R. Summerly;

Lipid composition and metabolism in normal and
diseased epidermis.

Pharmacol. Ther. 13 ,357 ,(1981)

Lebenslauf

Name: Adelheid Wurzer, geb. Schöter

Geb.-datum: 27.08.1951

Geburtsort: Paderborn

Eltern: Dr. med. Hermann Schöter

Dr. med. Ria Schöter

Schulen: 1958-1962 kath. Volksschule in Viersen

1962-1967 neusprachliches Gymnasium in
Viersen

1967-1972 städtisches Louise-Schröder-
Gymnasium in München

Hochschule: 1972-1977 Studium der Oecotrophologie an
der TU München/Weihenstephan;
Diplom 1977;

Beruf: 1977-1980 wissenschaftliche Tätigkeit am
Institut für Medizinische Balneologie und
Klimatologie der Universität München,
Klinikum Großhadern;

ab 1980 Dozentin an der Volkshochschule;

wissenschaftliche Beratung bei Verlagen

Familien-
stand

1975 Heirat mit Dr. med. Hannes Wurzer

1979 Geburt unserer Tochter Felicia

An dieser Stelle sei allen gedankt, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H. Drexel, dem ehemaligen Direktor des Instituts, für die Überlassung des Themas.

Herrn Prof. Dr. E. Senn, dem derzeitigen Direktor des Instituts, bin ich zu besonderem Dank verpflichtet für die Übernahme der Arbeit und des Korreferats.

Herrn Priv. Doz. Dr. H. G. Pratzel möchte ich sehr herzlich danken für die ständige Anleitung und Betreuung bei der Ausführung des experimentellen Teils, und für die Mithilfe und anregenden Diskussionen bei der Fertigstellung der Arbeit.

